

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución



TESIS DOCTORAL

**Revisión, distribución, evolución y papel ecológico de las especies
nidificantes en caracoles del género *Rhodanthidium* Isensee, 1927
(Hymenoptera, Megachilidae) del Mediterráneo Occidental**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Daniel Romero López

Directores

Pablo Vargas Gómez

Concepción Ornos Gallego

Madrid, 2020

Revisión, distribución, evolución y papel ecológico de las especies
nidificantes en caracoles del género
Rhodanthidium Isensee, 1927 (Hymenoptera, Megachilidae) del
Mediterráneo Occidental



Daniel Romero López
Universidad Complutense de Madrid
2020

REAL JARDÍN BOTÁNICO

CSIC
Madrid



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE
MADRID

Facultad de Ciencias Biológicas
Departamento de Biodiversidad, Ecología y
Evolución



**Revisión, distribución, evolución y papel ecológico de las especies
nidificantes en caracoles del género *Rhodanthidium* Isensee, 1927
(Hymenoptera, Megachilidae) del Mediterráneo Occidental**

Memoria presentada por Daniel Romero López para optar al grado de Doctor en Biología, dirigida por los Doctores Pablo Vargas Gómez, del Real Jardín Botánico de Madrid (CSIC) y Concepción Ornos Gallego, del Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución de la Universidad Complutense de Madrid.

Vº Bº de los Directores

Pablo Vargas Gómez

Concepción Ornos Gallego

Madrid, 2020

La presente Tesis Doctoral ha sido financiada por un contrato predoctoral para la Formación de Profesorado Universitario (FPU), concedido por el Ministerio de Educación, Cultura y Deportes (actualmente, Ministerio de Universidades), Gobierno de España (referencia de la ayuda: **FPU014/02750**).

AGRADECIMIENTOS

El primer y más grande agradecimiento (con el permiso de mis directores) se lo tengo que dar a mis padres. Al fin y al cabo, tener un padre y una madre profesores de Biología, que desde que naces te llevan al campo y te enseñan a conocer los distintos insectos, las aves, las plantas, las rocas y los minerales, con los que vas a la playa a coger conchas, que te regalan libros de dinosaurios, animales de goma y las memorias de Gerald Durrell, te marca. Ambos son culpables de que decidiera seguir este camino y sea, hoy, la persona que soy. Mamá, papá, gracias.

En segundo lugar, ahora, sí, quiero agradecer a mis directores, Paddy y Pablo, por haber confiado en mí, por haberme dado la oportunidad de entrar en la comunidad científica, por haberme descubierto el increíble mundo de las abejas y de la polinización. Gracias, Pablo, por haberme abierto las puertas del Jardín Botánico y su laboratorio, por haberme convertido en un híbrido de bota y bata y por haberme enseñado los entresijos del mundo científico. Y un millón de gracias, Paddy, por haberme abierto las puertas de tu despacho, por guiar y cuidar a la gente como lo haces y haber sido, más que una directora, una mentora.

El tercer agradecimiento, en mayúsculas, es para el que ha sido mi compañero de vida, desde que entré en la carrera de Biología, hace ahora once años, hasta el día de hoy. Gracias, Jau. Porque tú has sido partícipe de mis locuras de biólogo (sin ser tú nada de eso), has sido testigo de mi crecimiento científico, pero, sobre todo, has sido responsable de cómo he crecido como persona.

Muchas gracias a toda la gente que se ha visto arrastrada a distintos muestreos, a quienes me habéis acompañado al campo, aunque los 30°C a la sombra aconsejaban lo contrario, especialmente a Irene (algunos, pobres inocentes, os llevé sin saber muy bien a qué ibais, además, os pido perdón).

A becarios, doctorandos, postdocs, profesorado, técnicos y todas aquellas personas que pasaron por el extinto Departamento, ahora Unidad Docente, de Zoología, y, de algún modo,

habéis contribuido a que estos cinco años fuesen más felices: gracias. Mención especial a Edu, alma de la planta 10, y a mi compi, Ana.

A toda esa buena gente del Jardín Botánico, en particular a doctorandos y técnicos de laboratorio, que me recibisteis con los brazos abiertos y me hicisteis sentir uno más, a pesar de venir de fuera. También, gracias.

A Jens y Claus, por acogerme (científicamente) en Dinamarca y por dedicarme su atención, su experiencia y su tiempo, *tak*. A las personas tan estupendas con las que compartí residencia (sobre todo, a mis queridos italianos), a las que debo el que una estancia otoñal en Aarhus fuese una experiencia cálida, pese a la climatología, *grazie*.

A todos esos investigadores y a todas aquellas científicas que me habéis enviado muestras, que me habéis hecho sugerencias de bibliografía o de metodologías o que, simplemente, me habéis comentado lo interesante que os parecía esta investigación y me habéis animado a seguir, muchas gracias.

A Agustín e Irene, antiguo coordinador y actual coordinadora del programa de Doctorado en Biología, a Rosa y a Pedro, de Secretaría, les quiero agradecer su presteza y su ayuda para resolver mis dudas y para facilitar todos los trámites, en la vieja normalidad precovid, durante el confinamiento y en la nueva normalidad post pandemia.

Por último, gracias a amigas, amigos y familiares de aquí y de allí, por haberme ayudado a no perder la perspectiva, a mantener la cabeza despejada y a recordar, siempre, qué es lo que de verdad importa.

Para terminar, quiero dejar constancia de que escribir los agradecimientos ha sido, casi, la parte más complicada de la Tesis. Porque, aunque son todos los que están, no están todos los que son. A lo largo de estos cinco años (y los muchos que los precedieron, que, en el fondo, también forman parte del viaje) han sido muchas las personas que, de un modo u otro, me han ayudado, me han apoyado o me han dado buenos consejos. Por todo ello, escribo este último “gracias” dedicado a todas vosotras, las que estáis aquí mencionadas y las que no, por haber contribuido a contar esta historia.

ÍNDICE

Resumen	1
Abstract	4
Introducción	7
Interacciones bióticas	8
Interacciones polinizador-planta	9
Género <i>Rhodanthidium</i> Isensee, 1927	11
Historia natural del género <i>Rhodanthidium</i>	15
El género <i>Rhodanthidium</i> en la Península Ibérica	18
<i>Rhodanthidium sticticum</i> (Fabricius, 1787)	23
Hipótesis y objetivos	26
Material y Métodos	31
Muestreos de campo	31
Cría en cautividad	33
Obtención de muestras de ADN	33
Secuencias de ADN	34
Análisis de máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana	37
Análisis filogeográficos y diversidad genética	37
Datos de presencia y variables para la modelización de especies	38
Modelos de distribución de especies (SDMs)	40
Modelos de distribución conjunta de especies (JSDMs)	41
Redes de polinización	42
CAPÍTULO 1. Filogenia de especies de abejas nidificantes en caracoles: el ejemplo de los <i>Rhodanthidium</i> Isensee, 1927 del Mediterráneo Occidental.	44
CAPÍTULO 2. Filogeografía comparada de tres especies próximas de <i>Rhodanthidium</i> Isensee, 1927 (Hymenoptera: Megachilidae) del Mediterráneo Occidental.	63
CAPÍTULO 3. ¿Dónde y por qué? Abejas, conchas de Gasterópodos y clima: Distribución de <i>Rhodanthidium</i> Isensee, 1927 (Hymenoptera: Megachilidae) en la Península Ibérica.	86
CAPÍTULO 4. Abejas solitarias (Hymenoptera, Apoidea) como conectores en redes de polinización: el caso de <i>Rhodanthidium</i> Isensee, 1927.	112

CAPÍTULO 5. Biología de la abeja roja de los caracoles, <i>Rhodanthidium sticticum</i> (Fabricius, 1787): un Anthidiini con carácter.	136
Discusión General	159
Filogenia del género <i>Rhodanthidium</i>	159
Propuesta de una clasificación genérica y subgenérica	160
Controversias en torno a las especies y subespecies de <i>Rhodanthidium</i> del Mediterráneo Occidental	161
Diversidad genética y estructura filogeográfica de <i>Rhodanthidium septemdentatum</i> , <i>Rhodanthidium siculum</i> y <i>Rhodanthidium sticticum</i>	162
Filogeografía y colonización de las especies de <i>Rhodanthidium</i> nidificantes en caracoles	166
Distribución potencial modelizada de las especies ibéricas de <i>Rhodanthidium</i>	169
Uso de conchas de Gasterópodos	171
Distribución conjunta de <i>Rhodanthidium</i> y Gasterópodos	173
Papel ecológico de <i>Rhodanthidium sticticum</i> : generalista y conector de redes de polinización	176
Otros aspectos de la biología de <i>Rhodanthidium sticticum</i> : fenología, vuelo, territorialidad y reproducción	180
Conclusiones	184
En el futuro	189
Bibliografía	190

RESUMEN

El conocimiento que se tiene acerca de la mayoría de las especies de abejas (Hymenoptera, Apoidea) aún es muy limitado, más allá de aquellas con un especial interés económico, como la abeja de la miel o alguna especie de abejorro. Aspectos como el comportamiento territorial, la nidificación, el papel ecológico a nivel de comunidad, la distribución o las relaciones evolutivas entre las especies y poblaciones de cada especie forman parte del fascinante y todavía vasto mundo de los Apoideos, que espera ser descubierto. El estudio realizado ha abordado el conocimiento acerca de uno de los grupos más interesantes de la familia Megachilidae, las 11 especies de abejas del género *Rhodanthidium* Isensee, 1927, haciendo un especial hincapié en las existentes en el Mediterráneo Occidental, principalmente en tres de ellas: *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y, sobre todo, *Rhodanthidium sticticum*. Se trata de especies solitarias y territoriales, que presentan un particularísimo comportamiento nidificador, en el interior de conchas vacías de individuos de Gasterópodos. El estudio en detalle de *R. sticticum* se debe a una mayor abundancia de esta especie, por lo que se ha hipotetizado un relevante papel polinizador sobre un mayor número de especies vegetales.

Para ello, se partió de una recopilación exhaustiva de toda la literatura acerca del género *Rhodanthidium*, desde la descripción original de las distintas especies hasta la distribución geográfica de cada uno de los taxones del género, pasando por su implicación en diversas redes ecológicas y por su papel como polinizadores de especies de plantas, incluyendo varias amenazadas. Asimismo, se han analizado filogenias moleculares a partir de cinco genes nucleares, basadas en análisis de inferencia bayesiana y máxima verosimilitud, para inferir las relaciones evolutivas entre las diferentes especies que componen este género. Además, se han estudiado las relaciones de parentesco entre las poblaciones de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum*, a partir de secuencias mitocondriales, en el Mediterráneo Occidental. E igualmente, y concerniente a la distribución de esas tres especies de *Rhodanthidium*, se han modelizado los requerimientos climáticos que condicionan sus distribuciones, así como el uso que hacen de las conchas de Gasterópodos y cómo esto influye en sus patrones de distribución en la Península Ibérica. Por último, se ha descrito y analizado el papel ecológico de *R. sticticum*, por medio del estudio de varias redes de

polinización ibéricas, y se ha profundizado en diversos aspectos de su biología, tales como el uso de conchas de caracol más allá de la nidificación, la fenología, sus preferencias florales, el comportamiento territorial de los machos y el comportamiento reproductor.

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que el género *Rhodanthidium* no es monofilético y está formado por dos clados bien diferenciados, dentro de los que las especies nidificantes en conchas de Gasterópodos componen un grupo bien definido. Asimismo, las poblaciones de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* forman grupos monofiléticos por especies. Las tres especies tienen niveles altos de conectividad entre áreas geográficas, como consecuencia de una alta dispersabilidad y un exitoso establecimiento. Esta elevada capacidad colonizadora a lo largo de las últimas épocas geológicas se ha visto favorecida por distintos aspectos de la biología de estas especies de *Rhodanthidium*: su gran capacidad de vuelo, su polilectia y la nidificación en conchas de Gasterópodos, que proporcionan una mayor protección. A su vez, la extensión del clima mediterráneo y la abundancia de conchas de caracol vacías (favorecida por los sustratos calizos predominantes en gran parte del área mediterránea) han debido de ser claves para el éxito de las tres especies en el Mediterráneo Occidental. Además, el uso de conchas podría haber facilitado la dispersión a través del mar, en balsas vegetales. No obstante, otros requerimientos ecológicos podrían ser responsables de las diferencias observadas en la estructura geográfica de las tres especies: *R. siculum* en las zonas más cálidas y secas del Mediterráneo; *R. septemdentatum* en zonas con clima mediterráneo pero también más continentales, como Europa Central; y *R. sticticum* en áreas con clima típicamente mediterráneo. En relación a esto, pese a que las tres especies comparten un ancestro común más reciente, los niveles de diversidad genética y la distribución de linajes y haplotipos revelan unas estructuras filogeográficas diferentes: *R. siculum* y *R. septemdentatum* presentan una mayor diversidad de haplotipos, mientras que *R. sticticum* posee una diversidad y una estructura genéticas relativamente más bajas, aunque presenta una amplia distribución para algunos de sus haplotipos. Ello podría reflejar una distribución relativamente reciente de *R. sticticum* frente a las otras dos especies, que presentan unas filogeografías más estructuradas como consecuencia de conexiones geográficas más antiguas. Por otro lado, teniendo en cuenta la existencia de numerosos linajes y haplotipos compartidos entre unidades geográficas aisladas, probablemente hubo colonización recurrente de poblaciones de las tres especies en

épocas geológicas pretéritas. No obstante, las islas mediterráneas, a diferencia de las áreas continentales, muestran un aislamiento mayor. En cuanto a su distribución geográfica dentro de la Península Ibérica, *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* se reparten por zonas calizas de clima mediterráneo, debido a su idoneidad climática y a la presencia de abundantes conchas de Gasterópodos (que necesitan ingesta de cal para formar las conchas), de las que dependen para anidar y refugiarse. En relación con esto, la presencia conjunta de las tres especies estudiadas de *Rhodanthidium* y de las especies de Gasterópodos, cuyas conchas utilizan, se debe a una respuesta común a las condiciones ambientales y al uso necesario de los recursos bióticos (en este caso, de las conchas vacías de caracoles) de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum*. Para terminar, y atendiendo a su biología y a su papel ecológico, se ha encontrado que *R. sticticum* es la especie de abeja solitaria de mayor importancia en las redes de polinización estudiadas, gracias a su rol como conector y generalista. Esto, unido a (1) sus características fenológicas (es una especie primaveral, univoltina); (2) sus preferencias ambientales (en días soleados, cálidos y sin viento); (3) al uso necesario de las conchas de Gasterópodos (como nido, como refugio durante la noche y cuando las condiciones ambientales son adversas, pudiendo en esos casos compartir el refugio con otros individuos); (4) la amplitud de recursos tróficos en el forrajeo (es una especie poliléctica, con una mayor afinidad por las flores melitófilas, de corola larga y tubular y con una especial predilección por las plantas del género *Antirrhinum*); (5) su comportamiento territorial (los machos defienden parches de flores atractivos para las hembras, donde copulan con ellas, frente a otros machos y a individuos de otras especies); y (6) su comportamiento reproductor (los machos territoriales intentan evitar que otros machos copulen con las hembras con las que ya se han apareado, en una estrategia que podría estar relacionada con la competencia espermática), ha contribuido al éxito evolutivo y ecológico de *R. sticticum*. Todo ello, unido también a otros aspectos de su biología, dibuja un retrato completo de *R. sticticum* y señala a esta especie como una de las más exitosas de Apoideos, que debe tenerse muy en cuenta en las comunidades mediterráneas de polinizadores y de plantas y en su conservación.

ABSTRACT

Our knowledge about most of bee species (Hymenoptera, Apoidea) is very limited yet, besides those with a particular economic interest, such as the honeybee or some species of bumblebees. Aspects like territorial behaviour, nidification, ecological role at the community level, distribution or evolutive relationships among species and populations of each species are part of that fascinating and still vast Apoidean world, waiting to be discovered. This study has focused on one of the most interesting generas of the family Megachilidae, the 11 species of bees of the genus *Rhodanthidium* Isensee, 1927, paying special attention to the species from the West Mediterranean, principally three of them: *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* and, especially, *Rhodanthidium sticticum*. They are solitary and territorial bees, with a very particular nesting behaviour, inside empty Gastropod shells. The detailed study of *R. sticticum* responds to a greater abundance of this species, for what has been hypothesized that plays a relevant role on the pollination of a higher number of plant species.

To this aim, first an exhaustive recopilation of all the literature about the genus *Rhodanthidium* was done, comprising from the original description of the species to the geographic distribution of each taxa of the genus, including their implication in ecological networks and their role as pollinators of plant species, including threatened ones. Likewise, molecular phylogenies were elaborated from five nuclear genes, based on bayesian inference and maximum likelihood, to infer the evolutive relationships between the different species that form this genus. Besides, the relationships and genetic exchange between populations of *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum* were studied, from mitochondrial sequences, in the West Mediterranean. Equally, concerning the distribution of these three *Rhodanthidium* species, the climatic requirements responsible for it have been studied, as well as their use of Gastropod shells and how it affects their distribution patterns in the Iberian Peninsula. Finally, the ecological role of *R. sticticum* has been described and analyzed, through the study of several Iberian pollination networks, and detailed aspects of its biology have been described, such as the use of Gastropod shells other than nesting, phenology, plant preferences, territorial behaviour of the males and mating behaviour.

The results obtained in this work evidence that the genus *Rhodanthidium* is not monophyletic, and it is formed by two well differentiated clades, in which the species that nest inside Gastropod shells compose a well defined group. Furthermore, the populations of *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum* form monophyletic groups by species. The three species have high levels of connectivity between geographic areas, as a consequence of high dispersibility and successful establishing. This strong pattern of recurrent colonization among areas during recent geological times has been favoured by several aspects of the biology of these *Rhodanthidium* species: their strong flight ability, their polilecty and the nidification inside snail shells, which provide a better protection. Likewise, the extension of Mediterranean climate and the abundance of empty Gastropod shells (favoured by the predominance of limestone areas in the Mediterranean basin) must have been decisive for the success of the three species in the West Mediterranean. Besides, the use of shells could have facilitated across-the-sea dispersion in vegetal rafts. Nevertheless, additional ecological requirements may be responsible for the observed dissimilar geographic structures of the three *Rhodanthidium* species: *R. siculum* in the warmest and driest areas of the Mediterranean basin; *R. septemdentatum* in Mediterranean and more continental climates, even reaching Central Europe; and *R. sticticum* in areas with typical Mediterranean climate. Although the three species share a most recent common ancestor, levels of genetic diversity and distribution of haplotypes reveal different phylogeographic structures: *R. siculum* and *R. septemdentatum* have higher haplotype diversity and lineage structure, whereas *R. sticticum* has a rather large distribution of some haplotypes, with relatively low genetic diversity and structure. This could reflect a relatively recent distribution of *R. sticticum*, in contrast to the other two species, which show more structured phylogeographies as a consequence of older geographic connections. Also, given the sharing of haplotype lineages and haplotypes among isolated geographic units, there was probably recurrent colonization in the three species in past geological times. Nevertheless, Mediterranean islands, unlike continental areas, show phylogeographic evidence of stronger isolation. Concerning their distribution in the Iberian Peninsula, *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum* spread across limestone areas with Mediterranean climate, due to climatic suitability and the abundance of Gastropod shells (that need to ingest calcium in order to produce the shells) that they need to nest and shelter. In relation to this, the joint presence of the three studied species of *Rhodanthidium* and the species of Gastropods

whose shells they use is due to a common environmental response and to the use of biotic resources (empty snail shells) by *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum*. Finally, and attending to its biology and ecological role, it has been found that *R. sticticum* is the most important species of solitary bee in the studied pollination networks, on account of its role as a conector and generalist. This, together with (1) the description of its phenology (it is a univoltine species, on the flight in spring); (2) its weather preferences (in sunny, warm and windless days); (3) the use of Gastropod shells (for nesting, to take shelter during the night or when the weather conditions are adverse, even sharing the shell with other individuals); the use of a wide variety trophic resources for foraging (it is a polylectic species, with affinity for melittophilous flowers with long, tubular corollas and a particular predilection for the plants of the genus *Antirrhinum*); (5) its territorial behaviour (the males defending flower patches, attractive to the females, where they copulate, against other males and individuals of other species); and (6) to its mating behaviour (with territorial males trying to prevent other males from copulating with the females they already have mated, in a likely example of spermatic competition) has contributed to the evolutive and ecological success of *R. sticticum*. All this, in association with other aspects of its biology, draws a whole portrait of *R. sticticum* and points at this species as one of the most successful among the Apoideans, a species to take into account in Mediterranean communities of plants and pollinators and their conservation.

INTRODUCCIÓN

Las relaciones polinizador-planta, y su crucial papel ecosistémico (Ollerton *et al.*, 2011), han dirigido la evolución de los componentes implicados, plantas y polinizadores, desde que aparecieron las angiospermas en el Cretácico inferior (Crane *et al.*, 1995; Grimaldi, 1999; Soltis *et al.*, 2008). Los grupos animales comprometidos en esta estrecha relación son tan dispares como las aves, entre las que destacan colibríes, pájaros mieleros y suimangas (Anderson *et al.*, 2016; Regan *et al.*, 2015; Krauss *et al.*, 2017), los mamíferos, como roedores, murciélagos, pequeños marsupiales y primates (Carthew & Goldingay, 1997; Regan *et al.*, 2015), algunas lagartijas (Olesen & Valido, 2003) y, sobre todo, los insectos. Este grupo de Artrópodos es responsable actualmente de la polinización de cerca del 90% de las más de 400.000 especies de plantas con flor (Ollerton *et al.*, 2011). Son, no obstante, las abejas (Hymenoptera, Apoidea), el grupo que tiene un rol predominante en la polinización (Potts *et al.*, 2010). A día de hoy, su importancia en los ecosistemas terrestres es una realidad constatada (Klein *et al.*, 2007; Brown & Paxton, 2009), tanto por su papel como polinizadores de plantas silvestres (Kearns & Inouye, 1997; Ashman *et al.*, 2004; Ollerton *et al.*, 2011; Hung *et al.*, 2018) como por el rol esencial que desempeñan a través de la producción agrícola, que tiene grandes repercusiones económicas (Gallai *et al.*, 2009; Eilers *et al.*, 2011; Matias *et al.*, 2017).

En los últimos años, los estudios sobre estos animales han experimentado un notable impulso debido a la severa crisis mundial de biodiversidad, que están acusando especialmente numerosas especies de abejas, y que se ve reflejada en un considerable declive y en la situación crítica de muchas de las poblaciones de Apoideos en todo el mundo, como consecuencia de los graves riesgos a los que se enfrentan (Biesmeijer *et al.*, 2006; Otterstatter & Thomson, 2008; Johnson *et al.*, 2009; Ornos *et al.*, 2017, Woodcock *et al.*, 2017; Hofmann *et al.*, 2019). Una de las principales amenazas es el calentamiento global y las consecuencias del mismo. Este proceso ya está afectando a los polinizadores de manera directa (Memmot *et al.*, 2007; Herrera *et al.*, 2014, 2018), pero también indirecta, a través del efecto que produce sobre las plantas cuyas flores visitan o sobre otros factores bióticos, como el sustrato de nidificación, y por la introducción de especies invasoras, ya sean nuevas

competidoras, depredadoras, parásitas o patógenos (Muñoz *et al.*, 2008; Higes *et al.*, 2009; Gómez-Moracho *et al.*, 2015, Martín-Hernández *et al.*, 2018).

Son cuantiosos los datos que predicen una variación significativa en la fenología, abundancia y distribución de muchas especies, particularmente aquellas de zonas más susceptibles de sufrir alteraciones importantes, como son las áreas mediterráneas (Gordo & Sanz, 2005; Pyke *et al.*, 2016; Schenck *et al.*, 2018a, 2018b). Las predicciones coinciden en que la Península Ibérica, junto con el resto de la cuenca mediterránea, se verán más afectadas por el calentamiento global que otras regiones en un escenario de aridificación severa (Gómez-Aparicio *et al.*, 2011; Seager *et al.*, 2014; Coll *et al.*, 2017). En consecuencia, y dado el alto nivel de degradación de los ecosistemas mediterráneos después de miles de años de impacto humano, se necesita con urgencia más investigación en taxonomía, evolución, ecología, comportamiento y distribución de las diversas especies de abejas en general, y de las especies solitarias en particular. Esto es particularmente importante para polinizadores clave, que proporcionan los servicios ecosistémicos esenciales.

Interacciones bióticas

Los Apoideos interactúan con una amplia variedad de otras especies de animales y plantas, incluidas otras especies de abejas, con más o menos especificidad. Pueden encontrarse abejas parásitas sociales o cleptoparásitas, como las denominadas “abejas cuco”, entre otras, pertenecientes al subgénero de abejorros *Psithyrus* Lepeletier, 1833 (que parasitan los nidos de especies de otros subgéneros de *Bombus* Latreille, 1802), *Sphecodes* (Linnaeus, 1758) (las distintas especies ponen sus huevos, principalmente, en nidos de *Halictus* Latreille, 1804 y *Lasioglossum* Curtis, 1833, pero también en los de determinadas especies de *Andrena* Fabricius, 1775 y *Colletes* Latreille, 1802 (Bogusch *et al.*, 2006)). También presentan este comportamiento las especies del género *Nomada* (Scopoli, 1770), que, en su mayor parte, parasitan a especies del género *Andrena* (Alexander, 1991), del que son estrictamente dependientes, o las especies de *Coelioxys* Latreille, 1809, género de abejas cleptoparásitas de otros Megaquílicos y, por tanto, más relacionadas con las especies estudiadas en este trabajo (Michener, 2007).

En relación con las especies de plantas de las que se alimentan, existen especies de abejas oligolécticas, especialistas en unas pocas especies de un género o familia como *Bombus gerstaeckeri* (Morawitz, 1881), que es especialista del género *Aconitum* Linnaeus, 1753 (Ponchau *et al.*, 2005) o *Colletes hederæ* Schmidt & Westrich, 1993, que es especialista de *Hedera helix* Linnaeus, 1753 (Bischoff *et al.*, 2005). Por otro lado, pueden encontrarse especies con requerimientos específicos de nidificación, con algunos casos tan particulares como el de la especie australiana *Exoneurella tridentata* Houston, 1976, cuyo sustrato exclusivo son los árboles *Alectryon oleifolius* (Desf.) S.T. Reynolds, 1987 (Sapindaceae) y *Acacia papyrocarpa* Benth, 1864 (Fabaceae) (Silva *et al.*, 2018). Y respecto a este último aspecto, la familia Megachilidae es increíblemente diversa en el uso de materiales y elementos para sus nidos. El género *Osmia* (Panzer, 1806), por ejemplo, presenta especies que anidan en cavidades preexistentes, ya sea el interior de conchas de caracol vacías, orificios en la madera, en cañas o nidos abandonados de otras abejas, mientras que otras representantes del género construyen sus propios nidos de barro e incluso anidan bajo tierra (Cane *et al.*, 2007). Los materiales utilizados para proteger, cerrar y revestir el nido también son variados entre los Megaquílicos, entre los que se encuentran fragmentos de hojas o pétalos de flores (abejas cortadoras de hojas, *Megachile* Latreille, 1802), algodón o fibras vegetales (abejas cardadoras, pertenecientes al género *Anthidium* Fabricius, 1805) o barro (abejas albañiles o alfareras, del género *Osmia*) (Michener, 2007).

Interacciones polinizador-planta

Como resultado de las relaciones que se establecen entre polinizadores y plantas, no solo ha tenido y tiene lugar la evolución de ambos agentes implicados, como se mencionaba al comienzo. Las interacciones ecológicas que ocurren entre el animal visitante y la flor visitada también son responsables de la asombrosa diversidad de sistemas de polinización, desde los más generalizados a los más especializados (Johnson & Steiner, 2000; Waser & Ollerton, 2006; Krakos & Fabricant, 2014). Las interacciones mutualistas planta-animal se encuentran entre los procesos ecológicos más estudiados, ya que son el componente principal de las redes de polinización y dispersión de semillas (Trojelsgaard & Olesen, 2016; González-Varo *et al.*, 2018; Simmons *et al.*, 2018; Delmas *et al.*, 2019; Herrera, 2019; Valido & Olesen,

2019). Los estudios de redes de polinización pueden comprender a todos los polinizadores de un área y periodo determinados, lo que se conoce como redes totales, o centrarse en grupos de interés especial, como las aves (Rodríguez-Rodríguez & Valido, 2008; Maruyama *et al.*, 2014; Traveset *et al.*, 2015). La mayor parte de las redes totales tratan a todas las especies visitantes por igual, a pesar de la gran riqueza taxonómica y diversidad funcional que puede haber dentro de la comunidad. Esto ocurre especialmente con los insectos, que constituyen un grupo de visitantes muy heterogéneo, que accede a las flores en la búsqueda de recursos variados, como resinas, aceites o pétalos, además de polen y néctar (Thorp, 2000; Cameron, 2004; Martins & Johnson, 2007; Leonhardt & Blüthgen, 2009; Torretta *et al.*, 2014).

En esta línea, el importante papel de los Apoideos en las redes, como grupo, ha sido recientemente tratado en algunos artículos relevantes (Mello *et al.*, 2013; Tucker & Rehan, 2016; Ballantyne *et al.*, 2017; Gresty *et al.*, 2018; Jauker *et al.*, 2019). Se sabe, por tanto, que las especies de abejas son un elemento habitual, casi siempre presente en las redes de polinización, y que conectan distintos módulos (los módulos son grupos de especies, dentro de las redes, estrechamente ligados (Olesen *et al.*, 2007)), pero el papel ecológico de especies concretas sigue siendo desconocido. Esta información podría ser muy valiosa para una mejor comprensión de los animales como impulsores de servicios ecosistémicos y, en consecuencia, para el desarrollo de planes de conservación de las redes, centrándolos en la funcionalidad de los ecosistemas. La ecología y la historia natural de los Apoideos, en general, es bien conocida, pero su rol en relación a la estructura, la dinámica y la estabilidad de las redes de polinización es desconocido. A pesar de que algunas especies de abejas sociales, como *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 o determinadas especies de *Bombus*, han sido bien estudiadas desde la perspectiva de las redes (Kremen *et al.*, 2004; Greenleaf & Kremen, 2006; Rodrigo-Gómez *et al.*, 2016; Maia *et al.* 2019), no se sabe prácticamente nada acerca de cómo las especies solitarias operan en el contexto de una red de polinización.

En general, hay un conocimiento bastante completo acerca de la relación entre rasgos fenotípicos y roles topológicos, debido a que las características morfológicas de las especies a menudo modula la estructura de las redes, de tal forma que facilita y/o impide posibles interacciones (Stang *et al.*, 2006, 2007, 2009; Krishna *et al.*, 2008; Olesen *et al.*, 2010; Ibáñez, 2012). Es el caso del tamaño del pico de las aves nectarívoras y del tamaño de las flores de

las que se alimentan (Biddick & Burns, 2018), la longitud de la probóscide de algunas especies de abejas y la del espolón de determinadas flores (Blanco-Pastor *et al.*, 2015) o la relación entre especies de plantas con flores oleosas y abejas de patas largas (Pauw *et al.*, 2017). Sin embargo, no se sabe tanto acerca de la importancia para las redes de especies con biología determinadas, como son las especies de abejas solitarias, territoriales o con unos requerimientos de nidificación específicos. Este papel ecológico de especies concretas en las redes solo ha sido estudiado muy recientemente (Olesen *et al.*, 2018) y es desconocido para la mayoría de las redes publicadas y de las especies involucradas en dichas redes. Este último paso es importante, ya que sirve como puente entre la teoría de redes ecológicas y la ecología específica de las especies de la red.

Género *Rhodanthidium* Isensee, 1927

Las especies de abejas de la familia Megachilidae presentan comportamiento solitario, poseen un largo aparato bucal (“lengua larga”) y se caracterizan por el labro rectangular más largo que ancho y por sus estructuras recolectoras abdominales ventrales (escopas), ausentes en las especies cleptoparásitas (Michener, 2007). Con más de 4.000 especies identificadas hasta la fecha, las especies de esta familia están presentes en todos los continentes y poseen una gran diversidad a todos los niveles. A este respecto es destacable, como se ha comentado anteriormente, la variedad de sustratos y materiales que utilizan para la nidificación.

Dentro de esta familia, perteneciente a la tribu Anthidiini, el género *Rhodanthidium* se extiende por la región Paleártica, principalmente por Europa, norte de África y Oriente Medio (Michener, 2007; Ornos *et al.*, 2008; Kasperek, 2019). Solo una de sus especies, *R. glasunovi* (Morawitz, 1893), se distribuye en Asia Central (Mura *et al.*, 2015). Este género, compuesto por apenas una docena de especies, es particularmente interesante por el comportamiento territorial y nidificador de varias de sus especies. Michener (2007) lo describe como un “género paleártico, con especies de tamaño moderado a muy grande, formado por abejas de tipo calicodomiforme o euceriforme con abundantes marcas amarillas o amarillo-rojizas. Las bandas de color del metasoma están interrumpidas en la

parte media, al menos en los tergos anteriores. Algunos rasgos comunes son: (1) la ausencia de carenas, exepcto comúnmente una carena o lamela en el lóbulo pronotal y a veces una débil carina omalular superior; (2) las suturas subantennales rectas; (3) el escutelo redondeado o afilado lateralmente, nada o muy poco saliente sobre el metanoto; (4) la presencia de arolios; (5) el séptimo tergo del macho marcadamente trifido; (6) el gonostilo del macho, cuyos ápices son simples o tienen dos pequeños dientes; y (7) los esternos del macho, poco modificados.”

Desde la descripción del género por Isensee en 1927, la categoría taxonómica de *Rhodanthidium* ha estado en continuo cambio, pasando de género a subgénero, o desde su división en varios géneros, hasta la clasificación actual de Michener (2007) como género. Isensee (1927) definió *Rhodanthidium* como un subgénero de *Dianthidium* Cockerell, 1900, basándose en la descripción del macho y su genitalia, a partir de la especie tipo *R. siculum* (Spinola, 1838). Michener (1948) dotó a *Rhodanthidium* de la categoría de género y lo relacionó con *Paraanthidium* Friese, 1898. Mavromoustakis (1958) corroboró el establecimiento de *Rhodanthidium* como género y amplió la descripción original de Isensee con nuevos caracteres genéricos. En el género *Rhodanthidium*, Mavromoustakis (1958) incluyó a las especies *R. ordonezi* (Dusmet, 1915), *R. rufocinctum* (Alfken, 1930), *R. septemdentatum* (Latreille, 1809), *R. siculum* y *R. sticticum* (Fabricius, 1787). Posteriormente, Popov (1950) describió el género *Meganthidium*, a partir de la especie tipo *R. superbum* (Radoszkowski, 1876) y el subgénero *Asianthidium*, a partir de *R. glasunovi*. En el género *Meganthidium* de Popov, Mavromoustakis (1962) incluyó el subgénero *Oxyanthidium*, definido por él en dicho artículo a partir de *Rhodanthidium aculeatum* (Klug, 1832), que posteriormente Warncke (1980) redefinió como un subgénero de *Anthidium*, género en el que también incluyó a *Rhodanthidium*. Mavromoustakis (1958), asimismo, describió *Trianthidium*, un nuevo subgénero de *Rhodanthidium*, a partir de la especie tipo *R. caturigense* (Giraud, 1863). Por último, Pasteels (1969) estableció los géneros *Bellanthidium* a partir de la especie tipo *R. infuscatum* (Erichson, 1839) y *Axillanthidium* a partir de la especie tipo *A. axilare* (Pasteels, 1969), sinonimia de *R. caturigense ducale* Morawitz, 1876.

Michener & Griswold (1994), posteriormente, combinaron los géneros *Rhodanthidium*, *Meganthidium*, *Bellanthidium* y *Axillanthidium* en el género *Rhodanthidium*, que actualmente se considera dividido en tres subgéneros (Michener, 2007; Kasperek, 2019): (1)

Rhodanthidium Isensee, 1927, que incluye a las especies *R. acuminatum* (Mocsáry, 1884), *R. buteum* (Warncke, 1980), *R. exsectum* (Pasteels, 1969), *R. infuscatum*, *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum*; (2) *Asianthidium* Popov, 1950, formado por *R. aculeatum*, *R. caturigense*, y *R. glasunovi*; y (3) *Meganthidium* Popov, 1950, que incluye únicamente a *R. superbum*. Esta misma clasificación es la seguida por Ornos et al. (2008) y la que se ha adoptado en el presente trabajo (**Tabla 1**).

En la revisión más reciente del género, Kasperek (2019) reconoce, además de las once especies mencionadas, otras dos, que han sido hasta la fecha consideradas subespecies y cuyo estatus taxonómico es aún controvertido: *Rhodanthidium ordonezi*, como subespecie de *R. sticticum* endémica de Marruecos suroccidental, y *R. rufocinctum* como subespecie de *R. septemdentatum*. Además, este autor también recalca que *R. septemdentatum* y *R. caturigense* podrían ser complejos de especies y sus subespecies tener una categoría taxonómica superior. En dicha revisión, Kasperek (2019) también incluyó una clave de identificación de las 13 especies de *Rhodanthidium* (las 11 aceptadas de forma general, *R. rufocinctum* y *R. ordonezi*). Junto con la clave de Kasperek (2019), la clave de las especies de *Anthidium* del Paleártico elaborada por Warncke (1980), en la que están incluidas las 11 especies de *Rhodanthidium* (aunque aquí aparecen dentro del género *Anthidium*), son las únicas claves de identificación del género al completo.

Por otro lado, en su trabajo sobre la especialización de Anthidiini con respecto a las plantas que visita, Müller (1996) propuso un esquema filogenético de la tribu a partir de caracteres morfológicos e incluyó diez de las once especies de *Rhodanthidium* reconocidas por Michener (2007). En dicha filogenia, situó a *R. aculeatum* como especie hermana del resto y de los géneros *Eoanthidium* Popov, 1950 y *Anthidiellum* Cockerell, 1904. Müller (1996) también analizó el grado de especialización de las distintas especies y determinó que, en función de sus afinidades florícolas (oligolectia o polilectia, véase más adelante), las especies polilécticas de *Rhodanthidium*, que serían además las pertenecientes al subgénero *Rhodanthidium*, formarían un clado bien definido y la oligolectia sería el carácter ancestral, siendo la especie oligoléctica *R. superbum* la especie hermana del clado poliléctico.

Si se atiende a caracteres moleculares, en la primera y única filogenia con secuencias de ADN de especies de Anthidiini hasta la fecha, Litman et al. (2016) encontraron que el género

Rhodanthidium era parafilético, aunque estaba representado en dicho trabajo únicamente por tres especies (*R. caturigense*, *R. septemdentatum* y *R. superbum*, cada una perteneciente a un subgénero). Para ello, utilizaron cinco genes nucleares, cuatro codificantes de proteínas (CAD, NAK, LW-rodopsina y EF1-alpha, F2 copy) y uno ribosómico (28S). En la mencionada filogenia, *R. caturigense* y *R. superbum* formaban un clado mientras que *R. septemdentatum* se situaba en el clado de *Cyphanthidium* Pasteels, 1969 e *Icteranthidium* Michener, 1948, se encontraba en otro clado. En cualquier caso, según esta filogenia, las tres especies analizadas formarían parte del grupo que los autores denominan *Dianthidium*.

Subgénero	Especies	Distribución conocida	Afinidad florícola	Nidificación
<i>Asianthidium</i>	<i>R. aculeatum</i> (Klug, 1832)	Oriente Próximo	Oligoléctica de labiadas	Desconocida
	<i>R. caturigense</i> (Giraud, 1863)	Paleártico (desde Portugal hasta Irán)	Oligoléctica de leguminosas	Galerías excavadas en el suelo
	<i>R. glasunovi</i> (Morawitz, 1893)	Asia Central (Kazajistán, Kirguizistán, Tayikistán y Uzbekistán)	Desconocida	Desconocida
<i>Meganthidium</i>	<i>R. superbum</i> (Radoszowski, 1876)	Norte de Oriente Próximo (Turquía, Cáucaso e Irán) y Asia Central (Turkmenistán)	Oligoléctica de leguminosas	Desconocida
<i>Rhodanthidium</i>	<i>R. acuminatum</i> (Mocsáry, 1884)	Mediterráneo Oriental y Marruecos	Poliléctica	Desconocida
	<i>R. buteum</i> (Warncke, 1980)	Turquía	Desconocida	Desconocida
	<i>R. exsectum</i> (Pasteels, 1969)	Turquía	Oligoléctica de leguminosas	Desconocida
	<i>R. infuscatum</i> (Erichson, 1839)	Mediterráneo Occidental (Norte de África, Sur de Europa)	Poliléctica	Conchas vacías de Gasterópodos
	<i>R. septemdentatum</i> (Latreille, 1809)	Paleártico (desde Portugal hasta Irán)	Poliléctica	Conchas vacías de Gasterópodos
	<i>R. siculum</i> (Spinola, 1838)	Mediterráneo Occidental (Norte de África, Sur de Europa)	Poliléctica	Conchas vacías de Gasterópodos
	<i>R. sticticum</i> (Fabricius, 1787)	Mediterráneo Occidental (Norte de África, Sur de Europa)	Poliléctica	Conchas vacías de Gasterópodos

Tabla 1. Clasificación actual del género *Rhodanthidium*, seguida en este trabajo (Michener, 2007).

Historia natural del género *Rhodanthidium*

La biología, la distribución y la ecología de las especies del género *Rhodanthidium* han sido poco estudiadas, en comparación con otros géneros de abejas. Un simple vistazo a la base de datos de GBIF (GBIF.org, 2020) permite confirmar la escasez de citas en general, y de citas georreferenciadas en particular, disponibles para la mayoría de las especies del género. Para *R. acuminatum*, *R. buteum*, *R. exsectum*, *R. glasunovi* y *R. superbum* no hay citas georreferenciadas, para *R. aculeatum* y *R. siculum* hay menos de cinco, para *R. infuscatum* hay 15, para *R. caturigense* hay 22, para *R. sticticum* hay 71 y para *R. septemdentatum* hay 198. De las citas recogidas en GBIF, muchas se hallan repetidas o son antiguas. Al margen de esta base de datos, se pueden encontrar citas de presencia en diversos artículos, pero, en general, GBIF supone el acercamiento más inmediato a los datos georreferenciados de presencia de seres vivos, con lo que es posible hacerse una idea de lo infrarrepresentado que está este género.

Las especies orientales de *Rhodanthidium* (*R. acuminatum*, *R. aculeatum*, *R. buteum*, *R. exsectum*, *R. glasunovi* y *R. superbum*) son prácticamente desconocidas, aparte de su descripción (Klug, 1832; Radoszkowski, 1876; Mocsáry, 1884; Morawitz, 1893; Pasteels, 1969; Warncke, 1980) y de su inclusión en catálogos de faunas locales y listados de especies recolectadas en distintas expediciones (Mocsáry, 1884; Friese, 1931; Alfken, 1935; Mavromoustakis, 1939, 1962, 1968; Esmaili & Rastegar, 1974; Warncke, 1980, 1982; Aliev, 1985; Özbek & Zanden, 1993, 1996; Zanden, 1996; Ornos *et al.*, 2008; Grace, 2010; Güler *et al.*, 2014; Kirkitadze & Japoshvili, 2015; Murao *et al.*, 2015). Estos artículos incluyen, básicamente, datos de recolección (localidad y fecha), descripción de ejemplares y, en algunos casos, plantas visitadas, por lo que la biología de esas especies es totalmente desconocida. Como curiosidad, Alfken (1935) mencionaba que *R. superbum* se parecía mucho a *Vespa orientalis* Linnaeus, 1771 y a *Vespa crabro* Linnaeus, 1758, información que también repetía Kasperek (2019), aunque sin citar a Alfken.

Según Pasteels (1977), *R. infuscatum*, *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* anidan exclusivamente en conchas vacías de Gasterópodos, por lo que se las denomina “abejas de los caracoles”. Las conchas de caracol proporcionan una protección ideal, no solo por la dureza de las paredes del nido resultante sino, también, por la coloración blanca de la

superficie, que refleja la luz y protege del calor a la progenie, además de reducir el riesgo de parasitismo, inundación o depredación frente a nidos excavados en el suelo (Müller *et al.*, 2018). El uso de conchas de caracol como nidos no es exclusivo de este género y, aunque no es frecuente entre los Apoideos, está relativamente extendido en la tribu Osmiini, con 52 especies conocidas que son nidificantes obligadas de conchas de Gasterópodos (Müller *et al.*, 2018), pertenecientes a los géneros *Hoplitis* Klug, 1807, *Osmia*, *Protosmia* Ducke, 1900 y *Wainia* Tkalcu, 1980 (Koch, 2006, 2010; Cane *et al.*, 2007; Gess & Gess, 2008; Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Kuhlmann *et al.*, 2011; Müller & Mauss, 2016; Müller *et al.*, 2018). Aparte de las especies de la tribu Osmiini, este comportamiento solo está descrito en las cuatro especies mencionadas de *Rhodanthidium* y en dos especies del género *Afranthidium* (Gess & Gess, 1999, 2008, 2014), todas ellas pertenecientes a la tribu Anthidiini. Otros Artrópodos, como avispa, moscas y arañas, también utilizan conchas vacías de caracol para hacer sus nidos y, en el caso de las arañas, como refugio frente a condiciones ambientales adversas (Gess & Gess, 1999; Moreno-Rueda *et al.*, 2008). En el caso de las especies de *Rhodanthidium* nidificantes en conchas de Gasterópodos, las diferencias descritas entre unas y otras especies son bastante claras. *Rhodanthidium siculum* entierra los nidos (Erbar & Leins, 2017), mientras que las conchas utilizadas por *R. septemdentatum* y *R. infuscatum* están a simple vista, generalmente mezcladas con conchas vacías u ocupadas por nidos de *Osmia* (Fabre, 1891) y las conchas vacías empleadas por *R. sticticum* suelen estar escondidos bajo piedras, cobijados entre los matorrales con la abertura hacia abajo (Pasteels, 1977) o, cuando el terreno lo permite, enterrados en la arena (Ferton, 1911). Las hembras de *R. siculum* cierran los nidos por la abertura misma de la concha (Erbar & Leins, 2017), a diferencia del resto de especies, que habitualmente taponan la concha más dentro (interiormente), dejando abierta la vuelta más externa (Fabre, 1891; Pasteels, 1977). Los nidos de *R. septemdentatum* y *R. infuscatum* parecen idénticos, según Pasteels (1977), y la única forma de saber si pertenecen a una u otra especie era o bien diseccionarlos para ver las larvas en el interior, o bien esperar a que emergiesen los adultos.

El comportamiento territorial es otra de las características más destacables e interesantes de los Anthidiini. La defensa de territorios por parte del macho está descrita en *Anthidiellum notatum* (Latreille, 1809) (Turell, 1976), *Anthidiellum perplexum* (Smith, 1854) (Turell, 1976), *Anthidium banningense* Cockerell, 1904 (Jaycox, 1967), *Anthidium florentinum* (Fabricius,

1775) (Batra, 1978; Wirtz *et al.*, 1992; García-González & Ornos, 1999), *Anthidium illustre* Cresson, 1879 (Alcock, 1977), *Anthidium maculosum* Cresson, 1878 (Alcock *et al.*, 1977), *Anthidium manicatum* (Linnaeus, 1758) (Severinghaus *et al.*, 1981; Wirtz *et al.*, 1988; Wirtz *et al.*, 1992; Payne *et al.*, 2011), *Anthidium palliventris* Cresson, 1878 (Villalobos & Shelly, 1991), *Anthidium palmarum* Cockerell, 1904 (Wainwright, 1978), *Anthidium porterae* Cockerell, 1900 (Villalobos & Shelly, 1991) y *Anthidium septemspinosum* Lepeletier, 1841 (Sugiura, 1991). En el género *Rhodanthidium*, la territorialidad está bien documentada en *R. septemdentatum* (Nachtigall, 1997a, b), en *R. siculum* (Erbar & Leins, 2017) y mencionada, pero no descrita, en *R. sticticum* (Torres *et al.*, 2003; Vargas *et al.*, 2010), si bien ha sido caracterizada a nivel de interacción floral con el género de plantas *Antirrhinum* (Vargas *et al.*, 2017). El territorio controlado por el macho puede tener propiedades diferentes: en algunos casos, se corresponde con el lugar donde emerge la hembra (los machos emergen primero y esperan) o con el lugar de nidificación; en otros, los territorios defendidos son zonas con recursos abundantes de interés para las hembras (por ejemplo, flores) (Paxton, 2005).

Por otra parte, cuando se investiga sobre el grupo de los Apoideos, uno de los elementos de estudio de mayor interés lo componen las plantas que visitan para alimentarse y recolectar polen y néctar. En este ámbito, Müller (1996) examinó las cargas de polen de 72 especies de Anthidiini, incluyendo a *R. aculeatum*, *R. acuminatum*, *R. buteum*, *R. caturigense*, *R. exsectum*, *R. infuscatum*, *R. septemdentatum*, *R. siculum*, *R. sticticum* y *R. superbum*. A través de este estudio, determinó que *R. aculeatum* era oligoléctica de labiadas, mientras que *R. superbum* y *R. exsectum* eran oligolécticas de leguminosas (aunque de la última especie solo examinó una carga de polen, con un 96% de granos pertenecientes a leguminosas) y *R. caturigense*, aunque poliléctica, tenía también una fuerte predilección por las leguminosas. De *R. buteum* no pudo determinar su predilección por unas plantas u otras debido a que, por la rareza de esta especie, solo pudo analizar una muestra de polen, pero consideró al resto de especies del género *Rhodanthidium* como polilécticas y concluyó que recolectaban polen de hasta 17 familias, aunque con matices: *R. acuminatum* tenía una clara predilección por las leguminosas, *R. septemdentatum* se inclinaba por las leguminosas y las labiadas y *R. siculum* mostraba mayor una proporción de visitas a asteráceas (Erbar & Leins, 2017). Mavromoustakis (1962) observó y recolectó decenas de ejemplares de *R. aculeatum*, determinando que en el Líbano era monoléctica de *Salvia microstegia* Boissier & Balansa

1859. Aguib *et al.* (2010) consideraban a *R. infuscatum* como especie oligoléctica de cucurbitáceas en Argelia. *Rhodanthidium glasunovi*, especie que Müller (1996) no incluyó en su estudio, fue observada por Murao *et al.* (2015) en leguminosas y rosáceas, aunque sin indicar cantidad de visitas o de polen recogido y, por tanto, sin determinar si era una especie oligoléctica o poliléctica.

Por último, el estado de conservación de las especies del género *Rhodanthidium* es prácticamente desconocido. Ornos & Ortiz-Sánchez (2014a, b, c, d, e, f, g), en la Lista Roja Europea de Abejas de la UICN, analizaron siete taxones presentes en Europa, seis especies (*R. acuminatum*, *R. caturigense*, *R. infuscatum*, *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum*) y una subespecie de *R. caturigense*, con categoría específica entonces (*R. ducale* (Morawitz, 1876)). Todas ellas aparecen evaluadas como “con datos deficientes” excepto *R. acuminatum*, que aparece como “casi amenazada”.

El género *Rhodanthidium* en la Península Ibérica

En la Península Ibérica, están presentes cinco especies del género *Rhodanthidium* (Ornos *et al.*, 2008): *R. sticticum*, *R. septemdentatum*, *R. infuscatum*, *R. caturigense* y *R. siculum*. De todas ellas, *R. sticticum* es la más común y más abundante, mientras que esta especie y *R. septemdentatum* son las mejor estudiadas.

Rhodanthidium septemdentatum es una especie bastante frecuente, distribuida por el Paleártico Occidental, desde Portugal hasta el Cáucaso e Irán. Es abundante en el Mediterráneo Occidental (Lepeletier, 1841; Fabre, 1891; Mocsáry, 1884; Saunders, 1904; Dusmet, 1908, 1915b; Benoist, 1928; Alfken, 1938; Warncke, 1980, 1981; Pérez-Íñigo, 1981; Ortiz-Sánchez, 1990, 2011; Rasmont *et al.*, 1995; Jakobsson *et al.*, 2008; Ornos *et al.*, 2008; Comba & Comba, 2010; Lo Verde & La Mantia, 2011; Baliteau *et al.*, 2013; Baldock, 2014; Balzan *et al.*, 2016; Montero-Castaño *et al.*, 2016), en el Mediterráneo Oriental (Mocsáry, 1884; Graeffe, 1902; Fahringer, 1922; Maidl, 1923; Alfken, 1935; Werner, 1935; Mavromoustakis, 1958, 1959; Warncke, 1980, 1981; Petanidou, 1991; Özbek & Zanden, 1993; Standfuss *et al.*, 2003; Güler & Çagatay, 2006; Józán, 2009, 2014; Grace, 2010; Güler, 2011; Standfuss & Standfuss, 2012; González *et al.*, 2017), en Centroeuropa (Mocsáry, 1884;

Frey-Gessner, 1909; Warncke, 1980, 1981; Gogala, 1991, 1999, 2014; Rasmont *et al.*, 1995; Bélaková, 1996; Schwarz *et al.*, 1996, 1999; Stöckl, 2000; Zettel *et al.*, 2002; Hellrigl, 2003, 2006; Oertli *et al.*, 2005; Matache & Ban, 2006; Straka *et al.*, 2007; Józán, 2011; Schmid-Egger, 2011; Calefariu, 2016; Bogusch *et al.*, 2020) y en Oriente Próximo (Mavromoustakis, 1955; Warncke, 1980; Grace, 2010; Khaghaninia *et al.*, 2010; Maharramov, 2014). No parece repartirse, en cambio, por el norte de África, aunque Schulthess (1924) y Nadig (1933) citaban dos capturas de Marruecos, si bien, por la descripción de los ejemplares, se trata, probablemente, de *R. sticticum ordonezi*, como indicaba Kasperek (2019) en referencia al ejemplar de Schulthess. *Rhodanthidium septemdentatum* está formada por, al menos, tres subespecies, de las que en la Península Ibérica se encuentra solo la subespecie nominal (Ornosa *et al.*, 2008). De acuerdo con Kasperek (2019), estas subespecies podrían ser en realidad un complejo de especies. En su distribución ibérica es habitual que aparezca junto con *R. sticticum*, aunque su abundancia es bastante menor (Torné-Noguera *et al.*, 2014).

La biología de *R. septemdentatum* es, posiblemente, la más conocida y mejor estudiada de todo el género *Rhodanthidium*. Beltrán y Traveset (2018) destacaban su relevancia como polinizador de importancia ecosistémica en redes de interacción entre flores e Himenópteros de la isla de Mallorca, así como su condición de especie generalista (Traveset & Navarro, 2018). El comportamiento territorial de los machos fue descrito por Nachtigall (1997b), que también describió otros patrones de vuelo de esta especie (Nachtigall, 1997a). Según Nachtigall (1997b), los machos de *R. septemdentatum* defendían parches de flores, a los que las hembras iban a alimentarse y recolectar polen y néctar para sus nidos. Con respecto a los nidos, Xambeu (1896) encontró ejemplares que los construían en conchas de *Theba pisana* (Müller, 1774) en el Pirineo Oriental francés, comportamiento que también fue descrito por Friesse (1898) en conchas de *Helix pomatia* Linnaeus, 1758 en los Alpes italianos, por Fertón (1908) en conchas vacías del Gasterópodos terrestre *Eobania vermiculata* (Müller, 1774) en Córcega, por Altaba (1980) en *Cepaea nemoralis* (Linnaeus, 1758) en el Alto Ampurdán (España) y por Heneberg *et al.* (2020) en conchas de *Caucasotachea vindobonensis* (C. Pfeiffer, 1828) en la República Checa. Fabre (1891) hizo el seguimiento a ejemplares de *R. septemdentatum* desde que emergieron en abril y describió todo su comportamiento nidificador, destacando que las conchas de Gasterópodos que seleccionaban pertenecían, mayoritariamente, a la especie *Helix aspersa* (Müller, 1774) y, en

mucha menor medida, a *Cepaea nemoralis* y *Xerosecta cespitum* (Draparnaud, 1801). También encontró un nido en un ejemplar de *Zonites algirus* (Linnaeus, 1758) de Marsella, que le dejó tan impresionado que lo describió con todo detalle. Fabre (1891), asimismo, indicó la alta probabilidad de que *R. septemdentatum* pudiera nidificar en la concha vacía de otras especies de caracol que hubiese disponibles a lo largo de toda su amplia distribución, siempre que tuviesen el tamaño suficiente; igualmente, destacó que los nidos de *R. septemdentatum* se encontraban en la última espira de las conchas, sin un cierre externo visible, lo que dificultaba encontrarlos, a diferencia de lo que ocurría con los nidos de *Osmia* o de otros *Rhodanthidium* (*R. siculum*, Erbar & Leins, 2017). Xamheu (1896) también describió la larva de esta especie. Heneberg *et al.* (2020) determinaron que la presencia de conchas vacías era un factor limitante para la distribución de *R. septemdentatum*. Con relación a esto, Bogusch *et al.* (2020) observaron que la distribución de esta especie y la de varias especies de *Osmia* nidificantes en caracoles estaba ampliándose en Centroeuropa, debido a un aumento en la presencia de conchas vacías y a la expansión de varias especies de Gasterópodos. Por otro lado, el también megaquílido *Stelis ruficornis* Morawitz, 1872 es un cleptoparásito frecuente de *R. septemdentatum* y hay cierto parecido entre ambas especies de abejas (Kasperek, 2015).

La segunda de las especies gasterófilas, ***Rhodanthidium siculum***, presenta una distribución más reducida que *R. septemdentatum* (Ornosa *et al.*, 2008). Se reparte por el sur del Mediterráneo Occidental, desde el sur de la Península Ibérica hasta el sur de Italia y Sicilia (Mocsáry, 1884; Gribodo, 1894; Dusmet, 1908; Wanrcke, 1980; Ornosa *et al.*, 2008; Ortiz-Sánchez, 1990, 2011; Balzan *et al.*, 2016; Erbar & Leins, 2017) y por el norte de África, de Marruecos a Túnez (Lepelletier, 1841; Lucas, 1846; Mocsáry, 1884; Graeffe, 1906; Dusmet, 1915a; Saunders, 1908; Schulthess, 1924; Isensee, 1927; Wanrcke, 1980; Louadi *et al.*, 2008; Ornosa *et al.*, 2008; Aguib *et al.*, 2010), aunque es más común en el norte de África que en Europa. La limitada presencia de *R. siculum* en Europa y, particularmente, en la Península Ibérica, podría indicar rareza, pero también podría ser indicativo de un pobre estado de conservación de las poblaciones (Nieto *et al.*, 2014; Ornosa & Ortiz-Sánchez, 2014f). En la Península Ibérica solo se encuentra en la zona suroccidental y sus poblaciones son escasas. Isensee (1927) describió la genitalia del macho y lo usó como especie tipo para caracterizar el género *Rhodanthidium*. El comportamiento reproductor de *R. siculum* ha sido

recientemente descrito en detalle por Erbar & Leins (2017) en individuos de Sicilia, a los que hicieron un seguimiento durante la construcción de sus nidos en conchas vacías de *Theba pisana* y *Eobania vermiculata*. Estos autores observaron y describieron la cópula, la búsqueda de conchas, la construcción del nido (con el consiguiente transporte de alimento para la larva y material para el cierre de la concha) y su traslado a una zona guarecida y, cuando era posible, su enterramiento para asegurar una mayor protección. Erbar & Leins (2017) indicaron que, a diferencia de lo que ocurre en otras especies de Anthidiini, *R. siculum* no defendía territorios con abundantes flores a los que las hembras iban a alimentarse, sino los sitios de nidificación, donde las hembras estaban constantemente trabajando en la construcción de sus nidos en las conchas de caracol.

Rhodanthidium infuscatum y *Rhodanthidium caturigense*, también presentes en la Península Ibérica, son especies más escasas y difíciles de encontrar (Kasperek, 2019). ***Rhodanthidium infuscatum*** tiene una distribución semejante a la de *R. siculum* por el Mediterráneo Occidental, en el sur de Europa (Gribodo, 1894; Saunders, 1904; Dusmet, 1908; Pasteels, 1977; Warncke, 1980; Ortiz-Sánchez, 1990, 2011; Rust *et al.*, 2003; Ornos *et al.*, 2008) y el norte de África (Lepelletier, 1841; Lucas, 1846; Fabre, 1891; Gribodo, 1894; Saunders, 1908; Dusmet, 1915a; Morice, 1916; Nadig, 1933; Warncke, 1980; Louadi *et al.*, 2008; Ornos *et al.*, 2008; Aguib *et al.*, 2010), aunque las citas ibéricas son pocas e imprecisas en muchos casos. La especie fue descrita de Andalucía (Erichson, 1835) y posee un comportamiento similar al de *R. sticticum*, *R. siculum* y *R. septemdentatum* en cuanto a que anida en el interior de conchas de caracol, pero son escasas las referencias de este comportamiento. Únicamente está indicado por Fabre (1891), que indicaba que los nidos de *R. infuscatum* eran idénticos a los de *R. septemdentatum*, por Pasteels (1977), que se hacía eco de dicho trabajo, pero no aportaba conocimiento nuevo al respecto y por Ortiz-Sánchez (1990), que anotó “larva en concha de Gasterópodo”, sin dar más detalles. Fabre (1891) daba información precisa y detallada, además, del periodo de vuelo de esta especie (de julio a septiembre), y describió cómo la emergencia de los adultos en época tan tardía conllevaba algunos problemas, puesto que otras especies que también hacían sus nidos en conchas vacías, y con las que cohabitaba (varias especies de *Osmia*, *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum*), habían emergido meses antes, cuando *R. infuscatum* aún se encontraba en estado larvario. Esto, unido a que, al construir sus nidos, las hembras de *R. infuscatum*

dejaban gran parte de la concha vacía, que a menudo era aprovechada por otras especies para anidar, provocaba que, cuando los jóvenes imagos de *R. infuscatum*, ya formados en el fondo de la concha, intentaban emerger, no podían por estar bloqueada la salida y morían (Fabre, 1891). Otra curiosidad sobre esta especie es que la exigua bibliografía acerca de ella incluye la descripción de un ejemplar sin caracteres sexuales únicos (ginandromorfo) (Smit, 2003).

Con respecto a la penúltima de las especies ibéricas, *Rhodanthidium caturigense*, su biología es conocida desde el siglo XIX, cuando Giraud (1863) describió en gran detalle muchos de sus comportamientos. Se sabe que anida en el suelo, en sustratos terrosos o arenosos, secos y soleados, en agregaciones de decenas o centenares de nidos (Giraud, 1863; Benoist, 1928; Micheli, 1935; Maneval, 1936). Pasteels (1977) recopiló esta información, a la que añadió que anidaban en galerías individuales construidas por las hembras, no en cavidades preexistentes como ocurría en otros *Rhodanthidium*, y también indicó el carácter orófilo de dicha especie, corroborado por Ornosá *et al.* (2008). Maneval (1936) estudió una agregación durante cuatro años y destacó la querencia (filopatría) de la especie. Comparada con el resto de las especies de *Rhodanthidium*, *R. caturigense* es más tardía en su eclosión y puede encontrarse de junio a septiembre (Maneval, 1936). Se distribuye por Europa (Giraud, 1863; Mocsáry, 1884; Frey-Gessner, 1909; Maidl, 1922; Benoist, 1928; Micheli, 1935; Maneval, 1936; Mavromoustakis, 1954, 1958; Pasteels, 1969; Warncke, 1980; 2011-Sánchez, 1990; Petanidou, 1991; Rasmont *et al.*, 1995; Schwarz *et al.*, 1996; González *et al.*, 1999; Stöckl, 2000; Hellrigl, 2003, 2006; Ornosá *et al.*, 2008; Grace, 2010) y Oriente Medio (Morawitz, 1876; Warncke, 1980; Özbek & Zanden, 1993; Ornosá *et al.*, 2008; Grace, 2010; Güler, 2011; Nadimi *et al.*, 2014; Kirkitadze & Japoshvili, 2015) pero, al igual que sucede con *R. infuscatum*, las citas ibéricas de esta especie son escasas, antiguas y/o poco precisas (González *et al.*, 1999; Ortiz-Sánchez, 1990; Ornosá *et al.*, 2008). Como ocurre con *R. septemdentatum*, su amplia distribución y la existencia de varias subespecies hace pensar en la posibilidad de que sea un complejo de especies (Kasperek, 2019).

***Rhodanthidium sticticum* (Fabricius, 1787)**

La última de las especies ibéricas de *Rhodanthidium* es *Rhodanthidium sticticum*. Esta especie de abeja solitaria se distribuye por el Mediterráneo Occidental, en el Norte de África entre Marruecos y Túnez (Lepeletier, 1841; Lucas, 1846; Mocsáry, 1884; Gribodo, 1894; Graeffe, 1906; Saunders, 1908; Dusmet, 1915; Morice, 1916; Schulthess, 1924; Warncke, 1980; Louadi *et al.*, 2008; Ornos *et al.*, 2008; Kasperek & Lhomme, 2019) y en el sur de Europa, desde Portugal hasta Sicilia (Lepeletier, 1841; Mocsáry, 1884; Gribodo, 1894; Dusmet, 1908; Fertón, 1911; Warncke, 1980; Ortiz-Sánchez, 1990, 2011; Bosch *et al.*, 1993; Rasmont *et al.*, 1995; Torres *et al.*, 2001, 2002; Ornos *et al.*, 2008; Aguib *et al.*, 2010; Vargas *et al.*, 2010, 2013, 2017; Carrió & Güemes, 2013; Fernández-Mazuecos *et al.*, 2013; Baldock, 2014; Torné-Noguera *et al.*, 2014; Agulló *et al.*, 2015; Blanco-Pastor *et al.*, 2015; Kasperek & Lhomme, 2019). Kasperek & Lhomme (2019) incluyeron una cita de Grecia y otra de Croacia, ambas muy antiguas, las únicas de la especie para esos dos países, por lo que se consideran dudosas y el propio Kasperek las ponía en entredicho en otra publicación (Kasperek, 2019).

Por otro lado, Dusmet (1915a) describía la especie *Rhodanthidium ordonezi* Dusmet, 1915, endémica de Marruecos, como próxima a *R. septemdentatum* (especie ausente del norte de África), y la variedad *Rhodanthidium sticticum* var. *amismiziana* Dusmet, 1915 que, posteriormente, fueron incluidas como subespecies de *R. sticticum* bajo el nombre de *R. sticticum ordonezi* (Dusmet, 1915) (Pasteels, 1969; Warncke, 1980). Recientemente, Kasperek y Lhomme (2019) otorgaban de nuevo la categoría de especie a *R. ordonezi* basándose en la coloración y 11 medidas morfométricas.

El comportamiento nidificador de *R. sticticum*, en conchas de Gasterópodos vacías, está bien documentado, al igual que el de *R. siculum* y *R. septemdentatum*, aunque no hay descripciones precisas del proceso de construcción del nido, de la selección de conchas o de las características morfológicas de la larva. A pesar de que son consideradas nidificantes obligadas de conchas de caracol, en un artículo de Bosch *et al.* (1993), los autores utilizaron tubos de papel como cavidades de nidificación y obtuvieron nidos de *R. sticticum*, pero destacaron que estos materiales no se adecuaban a las necesidades de la especie, ya que obtuvieron pocos nidos y, además, hubo un número elevado de individuos que no llegó a completar su desarrollo o a emerger. Por otro lado, la descripción más antigua de nidos de *R.*

sticticum la hizo Lucas (1846) en Argelia, donde los observó en conchas de *Alabastrina alabastrites* (Michaud, 1833), *Otala lactea* (Müller, 1774) y *Otala dupotetiana* (Terver, 1839). Ferton (1911) indicó que esta especie construía sus nidos en conchas de *Theba pisana* y encontró nidos en *Cyclostoma sulcatum* Draparnaud, 1805, en Provenza (Francia). Según Ferton (1911) y Bosch *et al.* (1993), *R. sticticum* usa, además, conchas pequeñas o fragmentos de conchas grandes para hacer las separaciones de las celdas y para sellar el nido. Como se ha comentado previamente, Ferton (1911) describió que la hembra, una vez sellado el nido, enterraba los caracoles en la arena cuando era posible, un comportamiento parecido al de *R. siculum* descrito por Erbar & Leins (2017), pero también señaló que era frecuente encontrar conchas con nidos de *R. sticticum* ocultas entre piedras, como corroboró Pasteels (1977) varias décadas después.

De *Rhodanthidium sticticum* se conocen, en poca profundidad, algunos aspectos de su biología (incluyendo su comportamiento territorial, de nidificación o de refugio) (Torres *et al.*, 2001) y de su ecología de la polinización (Vargas *et al.*, 2010; Torné-Noguera *et al.*, 2014; Vargas *et al.*, 2017). En cualquier caso, es la especie más abundante y la más mencionada del género en publicaciones generales, junto a *R. septemdentatum*. En otro aspecto, son varios los autores que coinciden en su polilectia y en su importancia como especie generalista (Bosch *et al.*, 1993; Müller, 1996; Aguib *et al.*, 2010; Torné-Noguera *et al.*, 2014; Blanco-Pastor *et al.*, 2015; Vargas *et al.*, 2017), destacando su relevancia para especies amenazadas y/o endémicas de plantas. Es el caso de la leguminosa *Astragalus tragacantha* Linnaeus, 1753, una especie mediterránea amenazada (Schurr *et al.*, 2019) y de la cistácea *Helianthemum caput-felis* Boissier, 1838, en peligro de extinción (Agulló *et al.*, 2015), para las que *R. sticticum* es uno de sus polinizadores principales. También es el polinizador principal de la cistácea mediterránea (en este caso, no amenazada) *Fumana hispidula* Loscos & J. Pardo, 1863 (Carrió & Güemes, 2013). Mención aparte, es destacable la enorme importancia que *R. sticticum* tiene para la reproducción y supervivencia de numerosas especies de Antirrhineae, conocidas vulgarmente como “bocas de dragón”, a través de sus interacciones ecológicas (*Antirrhinum* Linnaeus, 1753; *Gadaria* Güemes y Mota, 2017; *Linaria* Miller, 1754), que parecen, además, estar relacionadas con la evolución de determinados caracteres florales (Vargas *et al.*, 2010, 2017; Guzmán *et al.*, 2015), como ocurre con varias especies del género *Linaria* (Blanco-Pastor *et al.*, 2015).

Concretamente, de un total de 18 especies de *Antirrhinum* estudiadas en la Península Ibérica, *R. sticticum* es el polinizador principal de cinco, para las que es responsable de más del 50% de las visitas de potenciales polinizadores a estas especies (*A. barrelieri* Boreau, 1854, *A. charidemi* Lange, 1882, *A. hispanicum* Chavannes, 1833, *A. molle* Linnaeus, 1753 y *A. microphyllum* Rothmaler, 1956), y es el polinizador predominante de otras tres especies de *Antirrhinum*, siendo responsable de entre el 25 y el 50% de las visitas de potenciales polinizadores (*A. australe* Rothmaler, 1956, *A. mollissimum* (Pau) Rothmaler, 1956 y *A. pulverulentum* Lázaro Ibiza, 1900) (Vargas *et al.*, 2017). Con respecto al género *Linaria*, se conocen 21 especies en la Península Ibérica, de las que *R. sticticum* es polinizador principal de cuatro (*L. almijarensis* Campo & Amo, 1855, *L. amoi* Campo ex Amo, 1855, *L. depauperata* Leresche ex Lange, 1870 y *L. viscosa* Hoffmanns. & Link, 1811) y polinizador predominante de otras cinco (*L. anticaria* Boissier & Reuter, 1852, *L. platycalix* Boissier, 1841, *L. polygalifolia* Hoffmanns & Link, 1811, *Linaria clementei* Haensel, 1817 y *L. salzmännii* Boissier, 1841) (Fernández-Mazuecos *et al.*, 2013; Blanco-Pastor *et al.*, 2015). De hecho, la eficiencia como polinizador de *R. sticticum* favorece claramente el éxito reproductivo de estas especies, la mayoría endémicas, amenazadas o ambas, y tiene un papel decisivo como agente selectivo clave para la supervivencia de las mismas (Vargas *et al.*, 2010).

Rhodanthidium sticticum tiene, por tanto, un papel predominante para numerosas plantas mediterráneas, destacando las especies de la tribu Antirrhineae, pero su papel funcional en comunidades vegetales con presencia de bocas de dragón (o comunidades vegetales en general) no se conocía bien hasta el presente estudio. Los Apoideos, como grupo, tienen una alta relevancia ecológica dentro de las redes de polinización y es de esperar que el rol de *R. sticticum*, en particular, destaque entre el resto de especies en comunidades mediterráneas. El comportamiento habitual de *R. sticticum*, en cuanto a su biología (territorialidad, recolección de polen y néctar), parece ser similar al de otras especies de la tribu Anthidiini (García-González & Ornos, 1995; Nachtigall, 1997a, 1997b; Ornos *et al.*, 2008). Identificar el papel de *R. sticticum* en las redes ecológicas de polinización podrá, pues, arrojar luz acerca del papel ecológico de otras especies de géneros próximos.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

El propósito general de este trabajo es investigar aspectos desconocidos de la ecología y la evolución de las especies de abejas del género *Rhodanthidium* de la Península Ibérica, prestando especial atención a las especies nidificantes en conchas de Gasterópodos. En concreto, se ha realizado un estudio en detalle de *Rhodanthidium sticticum*, y de su papel ecológico y evolutivo en comunidades vegetales ibéricas con especies de plantas del género *Antirrhinum*.

La hipótesis general de este estudio plantea que el comportamiento ecológico y la evolución de las especies de *Rhodanthidium* en general, y de *Rhodanthidium sticticum* en particular, está condicionado de manera significativa por la distribución de ciertas plantas mediterráneas, en particular de los dragoncillos de la tribu Antirrhineae (*Antirrhinum* y géneros próximos), debido a que estas abejas son sus polinizadores principales.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Inferir las relaciones filogenéticas de las especies de *Rhodanthidium* del Mediterráneo Occidental

Para ello, se pretende hacer una reconstrucción filogenética que permita describir las relaciones de parentesco de las especies de *Rhodanthidium*, en particular de las especies del del Mediterráneo Occidental, con las especies de otros géneros próximos de Anthiini.

La hipótesis de trabajo sostiene que las cuatro especies de *Rhodanthidium* nidificantes en conchas de caracol (*Rhodanthidium infuscatum*, *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum*) forman un clado bien definido. Cuatro objetivos específicos se han planteado para tratar de demostrar dicha hipótesis:

1. Determinar la posición de las especies de *Rhodanthidium* en la filogenia de los Anthiidini.
2. Determinar las relaciones evolutivas entre las especies de los diferentes subgéneros de *Rhodanthidium*, con especial atención al subgénero *Rhodanthidium*.
3. Comprobar, como indican estudios previos, el carácter polifilético del género *Rhodanthidium*.
4. Proponer, en su caso, una reordenación del género.

2. Realizar análisis de filogeografía comparada de tres especies de *Rhodanthidium* del Mediterráneo Occidental

Para lograr este objetivo, se pretende reconstruir las relaciones de parentesco entre poblaciones y linajes de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* en el Mediterráneo Occidental (que incluye la totalidad del área de distribución de *R. siculum* y *R. sticticum* y parte del área de *R. septemdentatum*), de manera que se puedan inferir patrones filogeográficos comunes de las especies mediante el análisis de secuencias de ADN mitocondrial.

La hipótesis planteada contempla que un antepasado del género *Rhodanthidium* divergió en las tres especies, pero que aún comparten rasgos morfológicos, distribuciones similares y coincidentes y patrones filogeográficos comparables, debido a las características biológicas y ecológicas que tienen en común. Para comprobar esta hipótesis, se han planteado tres objetivos específicos:

1. Contrastar la variación genética intraespecífica de cada una de las tres especies de *Rhodanthidium*.
2. Analizar la distribución de haplotipos y linajes en cada una de las especies estudiadas.
3. Inferir los patrones de colonización que han conducido a la distribución y composición genética actual de las tres especies.

3. Analizar el uso de conchas de Gasterópodos y estudiar los patrones de distribución de tres especies de *Rhodanthidium* en la Península Ibérica

Para ello, se va a estudiar el comportamiento de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* en relación a sus interacciones con Gasterópodos terrestres. Esto servirá de base para analizar la distribución conjunta de las especies de abejas y caracoles estudiados en la Península Ibérica.

La hipótesis planteada sostiene que la distribución, en la Península Ibérica, de las tres especies de *Rhodanthidium*, depende de factores abióticos (temperatura y precipitación), de modo que refleja condiciones mediterráneas, pero también de las interacciones bióticas que establecen con las especies de Gasterópodos cuyas conchas usan para nidificar. Para probar esta hipótesis, se han definido cuatro objetivos específicos:

1. Observar, recopilar y describir las interacciones que se establecen con los Gasterópodos e identificar las especies cuyas conchas son utilizadas en la Península Ibérica por *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum*.
2. Modelizar la distribución actual de las tres especies de *Rhodanthidium* en la Península Ibérica y Baleares y determinar las principales variables responsables.
3. Examinar patrones de coexistencia entre las especies estudiadas de *Rhodanthidium*, y de las mismas con los Gasterópodos cuyas conchas ocupan.
4. Analizar el componente residual y ambiental de dicha coexistencia para determinar las causas de la misma.

4. Determinar el papel ecológico de *Rhodanthidium sticticum* en redes de polinización

La teoría de redes ecológicas servirá de marco conceptual para construir redes de polinizadores en localidades de distintas especies de plantas del género *Antirrhinum*, para las que se ha observado previamente su polinización por *Rhodanthidium sticticum*. De este

modo, se pretende analizar el papel ecológico de *Rhodanthidium sticticum* en comunidades vegetales ibéricas con especies focales de *Antirrhinum*: *A. microphyllum*, *A. molle*, *A. mollissimum* y *A. pulverulentum*.

La hipótesis plantea que *R. sticticum* juega un papel esencial y es una de las especies clave en la ecología de la polinización en comunidades mediterráneas, en particular en aquellas con presencia de especies de *Antirrhinum*, entendiendo por “esencial” y “especie clave” a aquellas especies que tienen un rol ecológico relevante en las comunidades de polinizador-planta estudiadas, que funcionan como conectores de la red y que contribuyen a la estabilidad y el mantenimiento de la estructura de la misma. Para someter a test esta hipótesis, se han definido tres objetivos específicos:

1. Analizar comunidades de polinizador-planta, por medio de redes de polinización, en las que se describen los niveles de interacción entre *Rhodanthidium* y *Antirrhinum*.
2. Determinar el rol ecológico específico de *Rhodanthidium sticticum* en las redes de dichas comunidades.
3. Analizar el papel ecológico de otras especies de Anthidiini en estas y otras redes a nivel mundial y, concretamente, el papel de otras especies de *Rhodanthidium*.

5. Describir la historia natural de *Rhodanthidium sticticum*

Se pretende describir la biología de *Rhodanthidium sticticum*, con especial interés en la fenología, la polilectia, las interacciones con otras especies, las interacciones intraespecíficas y la territorialidad de la especie.

La hipótesis planteada defiende que los diversos comportamientos inter e intra específicos de *Rhodanthidium sticticum* y otros aspectos de su biología son iguales o muy parecidos a los de otros Anthidiini, especialmente a los de otras especies del género *Rhodanthidium*. Para ello, se pretende arrojar luz sobre esos aspectos de la biología de *Rhodanthidium sticticum* que no están claros, no han sido descritos o lo han sido con poco detalle, definiéndose tres objetivos específicos:

1. Describir la fenología de la especie, su respuesta a distintas condiciones atmosféricas y el uso como refugio de conchas vacías de Gasterópodos.
2. Cuantificar y analizar las especies de plantas visitadas por *Rhodanthidium sticticum* y describir el presumible comportamiento poliléctico de la especie y sus implicaciones.
3. Describir el vuelo, el comportamiento territorial y el comportamiento reproductivo de *Rhodanthidium sticticum*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreos de campo

Los **estudios de campo** se llevaron a cabo en las primaveras de 2014 a 2019 (principalmente, de 2016 a 2018, en los años centrales de este trabajo). Durante estas campañas, se capturaron los ejemplares necesarios para los **análisis genéticos** de las especies de *Rhodanthidium* basados en secuencias de ADN (**Capítulo 1, 2**) y se realizó la toma de todos los datos relativos a los **Capítulos 3, 4 y 5** (localidad, fecha, hora, condiciones atmosféricas, plantas visitadas, comportamiento), recorriendo el **área de distribución** conocida de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* en la Península Ibérica (que abarca, asimismo, el área de las restantes especies del género presentes en territorio ibérico), para verificar su presencia y encontrar posibles nuevas poblaciones (**Capítulo 3**). En las distintas localidades, se llevaron a cabo tres estrategias de muestreo: la búsqueda de ejemplares en vuelo, posados en las flores y en el interior de conchas de caracol. En el tercer caso, las conchas que contenían individuos de *Rhodanthidium* fueron recolectadas para su posterior identificación, mediante claves, en el laboratorio y consultando a expertos malacólogos. Además, se identificaron los ejemplares de Apoideos de su interior. Los ejemplares capturados para los análisis moleculares fueron conservados en alcohol al 100%, en cajas adecuadas para tubos y en un congelador (-20 °C).

De las especies de *Rhodanthidium* estudiadas, se dedicó una atención especial a la biología de *R. sticticum* por su interés, observado en estudios previos, por tener un supuesto papel relevante en la evolución de las boquitas de dragón (especies de *Antirrhinum* y *Linaria*) (Vargas *et al.*, 2010; Blanco-Pastor *et al.*, 2015; Vargas *et al.*, 2017) y por ser la especie más abundante en la Península Ibérica. Los muestreos realizados con este fin se llevaron a cabo a lo largo de toda la primavera, bajo diversas condiciones atmosféricas y en diferentes horas del día, con el objetivo de conocer su fenología y las preferencias ambientales de la especie (**Capítulo 5**). Además, durante dichos muestreos, se grabaron, fotografiaron y describieron los comportamientos relativos al vuelo, la territorialidad, el forrajeo (incluyendo las especies de plantas visitadas), la cópula y el uso de conchas de caracol de esta especie. A los datos

conseguidos para este trabajo se añadieron todos los disponibles en la bibliografía, para así obtener una imagen lo más detallada posible de su biología.

Por otro lado, se llevaron a cabo censos de polinizadores para analizar las **redes de polinización** en las que está implicada *R. sticticum*, y conocer su papel ecológico en una serie de comunidades mediterráneas (**Capítulo 4**). La idea surgió de estudios previos, en los que se había observado una estrecha relación entre esta especie de *Rhodanthidium* y, al menos, ocho especies de plantas del género *Antirrhinum* en la Península Ibérica (Vargas *et al.*, 2010; Vargas *et al.*, 2017), de las que se seleccionaron cuatro para estudiar las redes de polinización de las comunidades de plantas y los visitantes florales a las que pertenecían. La selección no fue casual, sino que cubría distintos niveles de frecuencia de visitas florales. En este contexto, las especies de *Antirrhinum* seleccionadas fueron *A. molle*, *A. microphyllum*, *A. mollissimum* y *A. pulverulentum* (**Tabla 1**; Vargas *et al.*, 2017). Las campañas de campo relativas a este estudio se llevaron a cabo en mayo y junio de 2017 y 2018, durante el pico fenológico de floración de la mayoría de las especies de plantas, en días soleados y durante las horas centrales del día (de 10:00 a 17:00). Cada localidad fue muestreada durante cinco días (20-25 horas en total cada una). Los muestreos siguieron transectos no lineales, cubriendo parches de vegetación de todas las especies vegetales de la zona, y se hicieron mediante observación directa.

Tabla 1. Localidad, coordenadas, implicación de *R. sticticum* en la polinización y porcentaje de visitas realizadas para las especies de *Antirrhinum*, cuyas comunidades de plantas y visitantes fueron seleccionadas para los análisis de redes de polinización.

Especie de <i>Antirrhinum</i>	Localidad	Provincia	Coordenadas GPS	Rol de <i>R. sticticum</i>	% visitas
<i>A. molle</i>	Gabasa	Huesca	42.007153°, 0.416735°	Principal	> 50
<i>A. microphyllum</i>	Buendía	Guadalajara	40.394967°, -2.791320°	Principal	> 50
<i>A. mollissimum</i>	Énix	Almería	36.877929°, -2.609264°	Predominante	> 25
<i>A. pulverulentum</i>	Nuévalos	Zaragoza	41.213594°, -1.791900°	Secundario	< 25

Después de realizar los censos de polinización, para interferir lo menos posible en la recogida de datos, los visitantes florales fueron capturados con manga entomológica, conservados en seco con acetato de etilo hasta su montaje posterior en el laboratorio, en seco, con alfileres entomológicos, de acuerdo a las normas habituales en Entomología. Se

almacenaron todos los ejemplares relativos a las redes de polinización en cajas para seco, etiquetados adecuadamente y guardados en la Colección de Entomología de la UCM (UCME), en frío, bajo condiciones ambientales controladas. Las distintas especies se identificaron mediante claves y, en caso de requerirse, por comparación con el material disponible en la colección. Los ejemplares de las plantas, por su parte, fueron guardados en pliegos, de acuerdo con las normas habituales en Botánica, e identificados también por medio de claves.

Para esta investigación, se intentaron minimizar el impacto y la presión sobre las poblaciones estudiadas, por lo que las capturas de ejemplares se redujeron al mínimo necesario para conducir adecuadamente los estudios de secuenciación de ADN y permitir la identificación de las especies implicadas en las redes de polinización.

Cría en cautividad

Como parte de las observaciones del comportamiento de las especies de *Rhodanthidium*, una pareja de *R. sticticum* y otra de *R. septemdentatum* se criaron en el laboratorio para observar más de cerca su comportamiento (**Capítulo 3, 5**). Cada pareja fue mantenida en una cámara de cría orientada al sur, con sol directo, durante un mes. Durante este período, se les proporcionaron conchas vacías y flores frescas.

Obtención de muestras de ADN

Las **muestras de ADN** utilizadas en los **análisis moleculares** (**Capítulo 1, 2**) fueron obtenidas a partir de los ejemplares procedentes de las capturas en las campañas de muestreo relativas a esta tesis (2015-2019), o de diferentes colecciones, tales como: la Colección de Entomología de la Universidad Complutense de Madrid (UCME), la Colección de la Universidad de Salamanca, la Colección del Real Jardín Botánico de Madrid (RJB-CSIC), la colección particular del Dr. F. Javier Ortiz y de individuos enviados por los Dres. Sihem Aguib (Argelia), Vittorio Nobile (Sicilia y Malta), Petr Bogusch (Centroeuropa y Sicilia), Ryuki Murao (Asia Central) y Jordi Bosch (Península Ibérica).

Inicialmente, se seleccionaron 33 ejemplares del género *Rhodanthidium* para realizar un **análisis filogenético** de *Rhodanthidium* y géneros próximos (**Capítulo 1**): un individuo de *R. glasunovi*, tres de *R. infuscatum*, cuatro de *R. caturigense*, cinco de *R. siculum*, siete de *R. septemdentatum* y 13 de *R. sticticum* (dos de los cuales pertenecían a la subespecie *R. sticticum ordonezi*). De estos individuos, tras llevar a cabo unos análisis preliminares, se descartaron nueve debido a que el ADN estaba muy degradado. Finalmente, se usaron 24 ejemplares para el estudio filogenético: un individuo de *R. glasunovi*, uno de *R. infuscatum*, cuatro de *R. siculum*, seis de *R. septemdentatum* y 12 de *R. sticticum* (incluyendo a los dos individuos de *R. sticticum ordonezi*). Además, se incluyó un set de datos de 21 muestras del grupo *Dianthidium* (incluyendo secuencias de las especies *R. caturigense*, *R. septemdentatum* y *R. superbum*), publicadas por Litman *et al.* (2016) y descargadas de GenBank.

Para llevar a cabo el estudio de **filogeografía** de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* (**Capítulo 2**), se obtuvieron muestras de un total de 305 ejemplares. De la especie *R. septemdentatum* se consiguieron 44 ejemplares de 24 poblaciones (una de Malta, una de Eslovaquia, tres de la República Checa, siete de Italia y 12 de España), de *R. siculum* se obtuvieron 25 ejemplares de 12 poblaciones (una de Malta, una de Portugal, dos de España, tres de Argelia y cinco de Italia) y de *R. sticticum* se secuenciaron muestras de 236 individuos pertenecientes a 63 poblaciones (una de Túnez, una de Francia, dos de Argelia, cuatro de Marruecos, cuatro de Portugal, siete de Italia y 44 de España). Además, de los 236 ejemplares de *R. sticticum*, cinco pertenecían a la subespecie marroquí *R. sticticum ordonezi*. Estas muestras cubrían la distribución completa de *R. siculum* y *R. sticticum*, y la distribución en el Mediterráneo Occidental y Europa Central de *R. septemdentatum* (Ornosa *et al.*, 2008).

Secuencias de ADN

El material genético necesario para realizar los análisis de filogenia y filogeografía (**Capítulo 1, 2**) fue extraído a partir de la musculatura torácica, siempre que fue posible o, en su defecto, de algunas de las patas traseras de los ejemplares. Para llevar a cabo la **extracción de ADN**, se usó el kit de extracción de sangre y tejidos DNeasy de QIAGEN

(DNeasy Blood and Tissue Kit), que se basa en la lisis de las muestras y la purificación de las mismas mediante centrifugaciones consecutivas con distintos tampones, hasta que únicamente queda el ADN. Las secuencias que se requirieron para dichos estudios fueron, posteriormente, amplificadas mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Para llevar a cabo el estudio de la filogenia molecular del género *Rhodanthidium* (**Capítulo 1**), se secuenciaron un total de 6.961 pares de bases de cinco genes ampliamente utilizados en estudios filogenéticos: cuatro genes nucleares codificantes para proteínas (**CAD**, 1.022 pares de bases; **EF1-alfa**, **copia F2**, 1.682 pares; **LW-rodopsina**, 983 pares; **NAK**, 1.519 pares) y un gen nuclear ribosomal (**28S**, 1.755 pares de bases). Los *primers* utilizados y las condiciones seguidas para la hacer las PCRs de los genes CAD, NAK, LW-rodopsina y 28S fueron idénticos a los listados en la Tabla S3 de Litman *et al.* (2011). Para la amplificación del gen EF1-alfa, los *primers* y condiciones de PCR seguidos fueron los mismos que se indicaron en el artículo de Litman *et al.* (2016). Los *primers* utilizados para amplificar los cinco genes analizados en la filogenia del género *Rhodanthidium* (**Capítulo 1**) eran específicos para la tribu Anthidiini. Para llevar a cabo la filogeografía de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* (**Capítulo 2**), se obtuvieron haplotipos mediante la secuenciación de la región mitocondrial de citocromo oxidasa II (**COII**) (Garney *et al.*, 1993; Franck *et al.*, 1998), debido a la rápida evolución del ADN mitocondrial en animales y a la herencia uniparental (por vía materna) del mismo (Avice, 2009). Además, dicha región ha sido usada, de forma generalizada, en estudios filogeográficos de *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Magnus & Szalansky 2010, Magnus *et al.* 2011, Szalanski *et al.* 2016, Techer *et al.* 2017) y otras especies de abejas, como *Xylocopa darwini* Cockerell, 1926 (Vargas *et al.* 2015). Se amplificó esta región utilizando los *primers* y siguiendo los protocolos descritos por Vargas *et al.* (2015). Tanto los *primers* como los protocolos empleados en los distintos análisis moleculares de *Rhodanthidium* (**Capítulo 1, 2**) están listados a continuación, en la **Tabla 2**.

Los productos de la PCR fueron secuenciados por MacroGen España. Las secuencias fueron ajustadas manualmente, alineadas y concatenadas mediante el programa MAFFT 7.450 (Katoh *et al.*, 2002), implementado en el *software* de análisis de secuencias Geneious 5.1.7 (Drummond *et al.*, 2010).

Tabla 2. Protocolos y *primers* utilizados en los análisis moleculares de la filogenia de *Rhodanthidium* y de la filogeografía de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum*.

Gen	Primer 1	Primer 2	Condiciones PCR	Referencia
28S	A	Mar	5 min 94 °C (45 s - 94 °C / 45 s - 58 °C / 1 min 15 s - 72 °C) x 35 ciclos 7 min 72 °C	Ward & Brady, 2003; Mardulyn & Whitfield, 1999
	Bel	D4	5 min 94 °C (1 min - 94 °C / 1 min - 58 °C / 1 min 30 s - 72 °C) x 35 ciclos 7 min 72 °C	
CAD	Cadmeg for1	Cadrev 4a	5 min 94 °C (30 s - 94 °C / 30 s - 56 °C / 30 s - 72 °C) x 35 ciclos 7 min 72 °C	Litman <i>et al.</i> , 2011
	Cadfor4	Cadrev 1meg	5 min 94 °C (30 s - 94 °C / 30 s - 55 °C / 30 s - 72 °C) x 35 ciclos 7 min 72 °C	
EF1-alfa	HaF2 for1	F2RevA nth	5 min 94 °C (45 s - 94 °C / 45 s - 58 °C / 1 min - 72 °C) x 36 ciclos 7 min 72 °C	Litman <i>et al.</i> , 2016
	For4y	Chlo10	5 min 94 °C (45 s - 94 °C / 45 s - 58 °C / 45 s - 72 °C) x 35 ciclos 7 min 72 °C	
LW-rodopsina	Opsin fora	Opsin rev3y	5 min 94 °C (45 s - 94 °C / 45 s - 54 °C / 45 s - 72 °C) x 35 ciclos 7 min 72 °C	Litman <i>et al.</i> , 2011
	Opsinfo r5a	Opsinre v5a	5 min 94 °C (45 s - 94 °C / 45 s - 58 °C / 45 s - 72 °C) x 35 ciclos 7 min 72 °C	
NAK	NAK for2	NAK rev2	5 min 94 °C (45 s - 94 °C / 45 s - 58 °C / 1 min 15 s - 72 °C) x 35 ciclos 7 min 72 °C	Cardinal <i>et al.</i> , 2010
	NAK for1	NAK rev1a	5 min 94 °C (45 s - 94 °C / 45 s - 54 °C / 45 s - 72 °C) x 35 ciclos 7 min 72 °C	
COII	E2	H2	1 min 94 °C (1 min - 94 °C / 1 min - 44 °C / 1 min - 72 °C) x 30 ciclos 10 min 72 °C	Vargas <i>et al.</i> , 2015

Análisis de máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana

Las filogenias moleculares, tanto del género *Rhodanthidium* en conjunto como de las tres especies estudiadas en más profundidad (**Capítulo 1, 2**), se elaboraron por medio de análisis de inferencia Bayesiana y de máxima verosimilitud. Previamente a las reconstrucciones filogenética y filogeográfica, se usó el programa jModelTest 2.1.10 (Posada, 2008), con el fin de determinar el modelo más simple de evolución de las secuencias que mejor se ajustaba a los datos. Los análisis de **inferencia Bayesiana** se hicieron con el *software* MrBayes 3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), implementado en el portal de análisis moleculares CIPRES Science Gateway (Miller *et al.*, 2010). Con respecto a la filogenia del género *Rhodanthidium* (**Capítulo 1**), se hicieron análisis de locus y multiloci, usando, de acuerdo con lo indicado por jModelTest, los modelos **GTR+G** (para el análisis multiloci y los genes **28S** y **NAK**), **HKY85+G** (para los genes **EF1-alfa** y **LW-rodopsina**) y **K80+G+I** (para el gen **CAD**), en cada caso con dos búsquedas de 10 millones de generaciones cada una, con una frecuencia de muestreo por cada 1.000 árboles, de los que se descartó el 20% inicial como *burn-in*. Se comprobó la convergencia de las cadenas resultantes con el programa Tracer v1.7.1 (Rambaut *et al.* 2018). De igual manera, para obtener la filogenia y los clados principales de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* (**Capítulo 2**), los modelos óptimos seleccionados por jModelTest fueron **GTR+G** (para *R. septemdentatum* y *R. sticticum*) y **HKY85** (para *R. siculum*). Los análisis de **máxima verosimilitud** se realizaron con el *software* online PhyML 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003; Guindon *et al.*, 2010), implementado en la plataforma bioinformática ATGC (<http://www.atgc-montpellier.fr>), empleando los mismos modelos de evolución de secuencias que en los análisis de inferencia Bayesiana, con 1.000 repeticiones de *bootstrap* rápido. En todos los casos, se visualizaron y editaron los **árboles filogenéticos** con el programa FigTree 1.4.4 (Rambaut, 2012).

Análisis filogeográficos y diversidad genética

Dentro de la filogeografía de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum*, basada en secuencias de **COII** (**Capítulo 2**), se infirió la **conectividad** entre las poblaciones de cada especie analizando los **haplotipos** compartidos,

los diferentes **haplogrupos y linajes** y su distribución geográfica. Con el objetivo de definir las relaciones genealógicas entre los haplotipos y representarlas mediante redes haplotípicas, se usó el *software* PopART 1.7 ((Leigh & Bryant, 2015), que utiliza la parsimonia estadística (Templeton *et al.*, 1992). El número máximo de diferencias resultante de sustituciones únicas entre haplotipos (los indels no fueron tenidos en consideración) se calculó con límites de confianza del 95%. Además, se hicieron análisis de **diversidad genética** para comparar poblaciones y especies. Mediante el programa DNAsp v.6 (Rozas *et al.*, 2017), se calcularon el número de secuencias y de haplotipos diferentes, la **diversidad haplotídica** (H) y la **diversidad nucleotídica** (π) de cada una de las tres especies y, dentro de cada especie, del conjunto de las distintas poblaciones, en función de las regiones geográficas en las que se encuentran. Para terminar, empleando el mismo programa, se estimó el índice de fijación (F_{ST}), que mide la **diferenciación genética** entre grupos de poblaciones (Weir & Cockerham, 1984; Holsinger & Weir, 2009).

Datos de presencia y variables para la modelización de especies

Por otro lado, para modelizar la **distribución** y el **nicho climático** de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* (**Capítulo 3**), se recopilaron datos de presencia en la Península Ibérica y Baleares, de las diversas campañas de muestreos y de las colecciones mencionadas anteriormente, así como de la bibliografía disponible (Dusmet, 1908; Ortiz-Sánchez, 1990; Bosch *et al.*, 1993; Baldock, 2014). En total, se consiguieron datos de 427 poblaciones de *Rhodanthidium*: 157 localidades de *R. septemdentatum*, 24 de *R. siculum* y 246 de *R. sticticum*. Los datos de distribución de las especies de Gasterópodos usadas por los tres representantes de *Rhodanthidium* se obtuvieron del portal de biodiversidad GBIF (GBIF.org 2018a, b, c, d, e), donde eran abundantes y cubrían toda la distribución ibérica (lo que no ocurre con *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum*).

Junto con los datos de presencia de las especies a estudiar, para realizar los **modelos de distribución de especies (SDMs)** se seleccionaron 19 variables bioclimáticas de temperatura y precipitación, con una resolución de 2,5', que se obtuvieron de la base de datos de

WorldClim 2.0 (<http://www.worldclim.org/version2>) (Fick & Hijmans, 2017). También se elaboró un set de modelos en el que, junto a estas 19 variables, se incluyó una más: un mapa de idoneidad ambiental para la presencia de los caracoles. Con la finalidad de analizar la distribución conjunta de las tres especies de *Rhodanthidium*, entre sí y con las especies de Gasterópodos que utilizan, se hicieron **modelos de distribución conjunta de especies (JSDMs)**, para los que solo ocho de las 19 variables fueron utilizadas, aquellas con mayor significado ecológico para *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* (marcadas con un asterisco en la **Tabla 3**). Estas ocho variables se seleccionaron a partir de los resultados obtenidos en los SDMs, siendo las variables que, en conjunto, explicaban mayoritariamente (en más de un 90%) los modelos resultantes.

Tabla 3. Variables bioclimáticas de Worldclim utilizadas para los modelos de distribución de especies (SDMs). Las variables utilizadas para los modelos conjuntos (JSDMs) están marcadas con un asterisco (*).

	Variable	Abreviación
bio1	Temperatura media anual	AMT
bio2	Rango diario medio anual	AMDR
bio3	Isotermalidad	I
bio4	Estacionalidad de la temperatura	TS
bio5	Temperatura máxima del mes más cálido	MTWaM
bio6*	Temperatura mínima del mes más frío	MTCM
bio7	Rango de temperatura anual	ATR
bio8*	Temperatura media del trimestre más húmedo	MTWQ
bio9	Temperatura media del trimestre más seco	MTDQ
bio10	Temperatura media del trimestre más cálido	MTWaQ
bio11*	Temperatura media del trimestre más frío	MTCQ
bio12	Precipitación anual	AP
bio13	Precipitación del mes más húmedo	PWM
bio14*	Precipitación del mes más seco	PDM
bio15*	Estacionalidad de la precipitación	PS
bio16	Precipitación del trimestre más húmedo	PWQ
bio17*	Precipitación del trimestre más seco	PDQ
bio18*	Precipitación del trimestre más cálido	PWaQ
bio19*	Precipitación del trimestre más frío	PCQ

Modelos de distribución de especies (SDMs)

La recopilación de datos de presencia y de variables ambientales, detallada anteriormente, se hizo con el objetivo de llevar a cabo los modelos de distribución y de nicho climático de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* y de las especies de Gasterópodos necesarias para su nidificación. Para obtener estos modelos (SDMs), se usó el *software* **Maxent** (versión 3.3.3.k; Phillips *et al.*, 2006). Este programa de modelización se basa en el **algoritmo de máxima entropía**, que utiliza datos de presencia-*background* para inferir distribuciones potenciales, a partir de los mencionados **datos de presencia** y unas **condiciones ambientales** concretas. Como resultado de los análisis, Maxent proporciona o, mejor dicho, modeliza, como mejor distribución potencial, la más cercana a una distribución uniforme (Phillips & Dudík, 2008; Elith *et al.*, 2011). Para optimizar los modelos obtenidos, los SDMs se hicieron tras seleccionar unos parámetros específicos (no con los parámetros por defecto de Maxent), calculados con el paquete de R ENMEval (Muscarella *et al.*, 2014). Esos parámetros son la clase de entidad (**FC**) y el multiplicador de regularización (**RM**), cuya importancia radica en que su elección determina el sobreajuste, la complejidad del modelo y las predicciones que se obtengan (Phillips *et al.*, 2006, 2017; Phillips & Dudík, 2008; Elith *et al.*, 2011). Para estimar hasta qué punto el modelo predicho se ajusta a los datos de distribución conocida, ENMEval también calcula una serie de medidas de evaluación, de las que el área bajo la curva (**AUC**) refleja la complejidad y la adecuación del modelo obtenido con los parámetros de FC y RM seleccionados. Se seleccionaron, por tanto, los parámetros de FC y RM que dieron como resultado el AUC más alto (entre 0 y 1, siendo 0 el modelo que menos se ajusta a la distribución conocida y 1, el que más).

Una vez recopilados los datos de presencia, seleccionadas las variables ambientales y los parámetros del análisis, se procedió a la modelización con Maxent para las especies de *Rhodanthidium* y las de Gasterópodos, realizando análisis *bootstrap* de diez réplicas, obteniendo en cada caso un **mapa de idoneidad ambiental** (o de distribución potencial). En estos mapas se mostraba cada píxel del mismo con unos valores que oscilaban entre 0 y 1, siendo 0 las zonas menos idóneas para las especies estudiadas (donde, por tanto, la presencia es menos probable) y 1 las zonas con condiciones más apropiadas para su

presencia (Phillips *et al.*, 2006; Hinojosa-Díaz *et al.*, 2009). También se elaboró un mapa de idoneidad ambiental para el conjunto de las especies de caracol. Los análisis de Maxent proporcionaron, como resultado, además de los mapas de idoneidad ambiental, la **contribución** de cada variable al modelo (asignando a las variables con mayor contribución una mayor relevancia ecológica) y las **curvas de respuesta** de cada variable (que muestran cómo los cambios en cada variable afectan a la probabilidad de presencia y a la idoneidad ambiental en función de la variación ambiental). A partir de las curvas de respuesta, se identificaron los valores óptimos para las distintas variables, estableciendo un umbral de 0,7 en la idoneidad ambiental para la especie, a partir del cual se consideró que los valores de esa variable eran óptimos. Los mapas de distribución potencial fueron proyectados con el *software* de información geográfica QGIS 2.18.16 (QGIS Development Team, 2009).

Modelos de distribución conjunta de especies (JSDMs)

Además de estudiar la distribución de las tres especies de *Rhodanthidium*, se examinaron sus patrones de **distribución conjunta** con las especies de Gasterópodos que utilizan para nidificar, y entre sí (**Capítulo 3**). Para ello, se calculó el **índice de Schoener** (Schoener, 1968; Hardy, 2008; Warren *et al.*, 2008; Pollock *et al.*, 2014), un índice usado frecuentemente en el estudio de distribuciones conjuntas, pero que no profundiza en los factores causantes de las mismas. Con el objetivo de ir un paso más allá y analizar las posibles causas de la presencia simultánea, se llevaron a cabo **modelos de distribución conjunta de especies (JSDMs)** que, a diferencia del índice de Schoener, sí son informativos en cuanto a los factores responsables de dicha coexistencia. Para elaborar estos modelos, se usó un código de R para JSDMs, desarrollado por Pollock *et al.* (2014), que se basa en modelos de **regresión multivariante probit** (Chib & Greenberg, 1998). Los JSDMs descomponen la distribución conjunta en componentes, que pertenecen a dos categorías: los componentes que explican una respuesta común ante las variables ambientales estudiadas en el modelo (**componente ambiental de coexistencia**) y los que responden a otros factores no analizados (**componente residual de coexistencia**). Es el componente residual el que puede indicar, entre otras cosas, una historia evolutiva compartida, una respuesta común ante variables ambientales no analizadas o una interacción biótica de algún tipo entre las especies que coexisten. En el

caso de que haya una distribución conjunta significativa entre las especies, los valores de estos componentes de coexistencia serán positivos. Si, por el contrario, los componentes son negativos, no hay una coexistencia significativa o, al menos, los datos de presencia empleados en el análisis no la reflejan.

Redes de polinización

Por último, en este trabajo se ha analizado el papel ecológico de *R. sticticum* en comunidades vegetales mediterráneas y, concretamente, en la interacción y reproducción del género de plantas *Antirrhinum*, para lo que se elaboraron **redes de polinización (Capítulo 4)**, en este caso cualitativas, y se calcularon las propiedades estructurales de la red utilizando el paquete bipartite (Dormann *et al.*, 2008) en RStudio 1.1.383 (RStudio Team, 2016). Las propiedades estudiadas fueron el nº de especies visitantes, nº de especies de plantas, nº de interacciones potenciales, nº de interacciones observadas y la **conectancia** (ratio entre las interacciones observadas y las potenciales). También se llevó a cabo un análisis de **anidamiento**, una forma de medir la estructura de los sistemas ecológicos, con el programa Aninhado 3.0 (Bangu) (Guimaraes & Guimaraes, 2006; Almeida-Neto *et al.*, 2008), y se analizaron los datos relativos a la proporción de especies y órdenes visitantes de las cuatro redes, así como de abejas, para caracterizar la composición de las mismas.

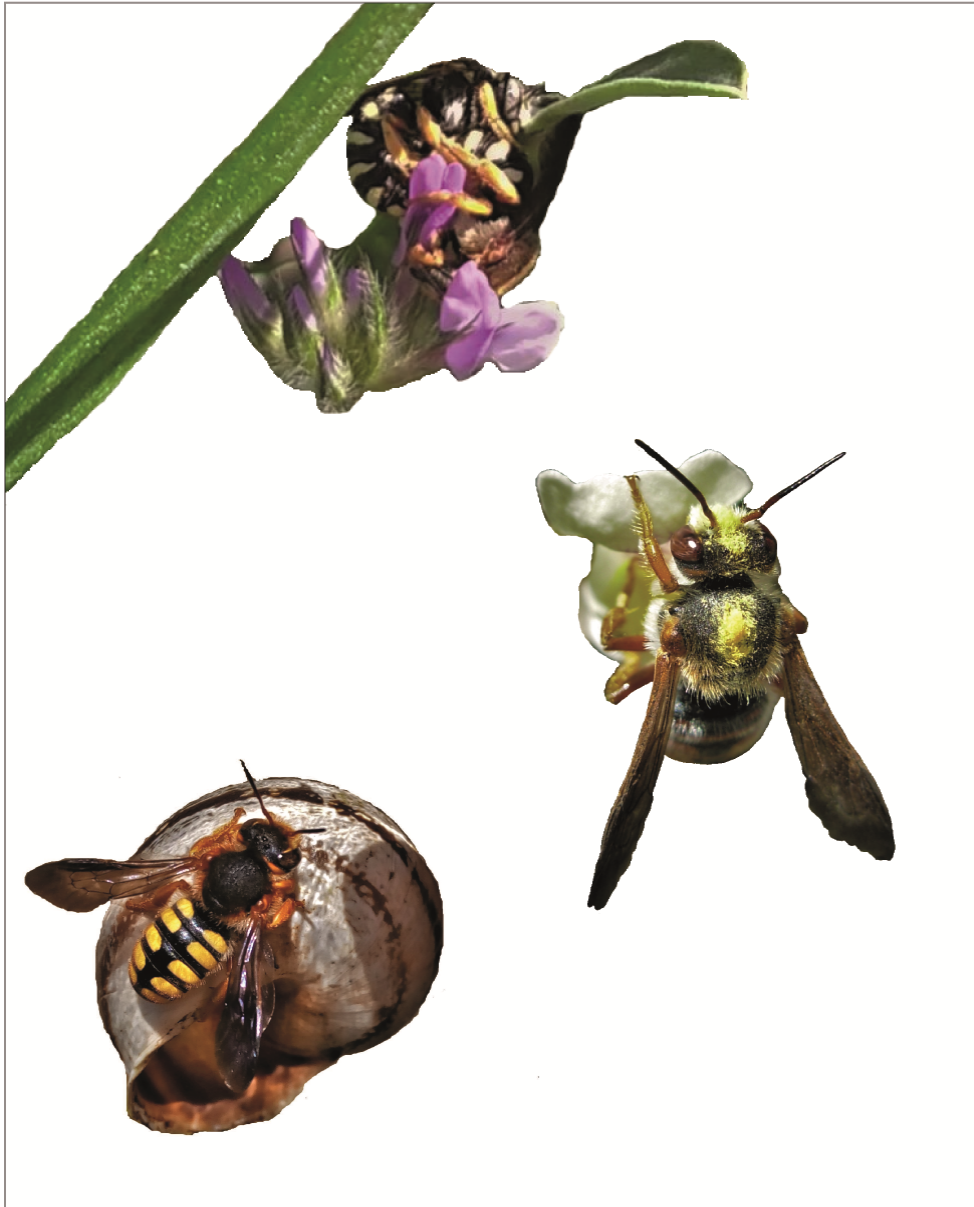
Una de las propiedades de las redes de polinización más interesantes e informativas es la **modularidad**, que se define como la tendencia de una red a organizarse en grupos bien delimitados llamados módulos (Olesen *et al.*, 2007; Jordano *et al.*, 2009; Dupont & Olesen, 2012). La modularidad es, por tanto, la propiedad de la red a la que se ha prestado más atención, usando el *software* Netcarto (Guimerà & Amaral, 2005a, b), un programa específico para el estudio de la modularidad y sus parámetros, para llevar a cabo los análisis necesarios. Los resultados de los análisis de modularidad aportan información no solo acerca de la modularidad de la red en su conjunto, sino también en cuanto al **papel ecológico** de cada especie dentro de la red, que es, precisamente, lo que se pretendía estudiar para *R. sticticum*. Dentro de los parámetros de modularidad obtenidos, son dos en concreto los que se utilizan para identificar a las especies ecológicamente relevantes de las redes: **z** (cómo de

bien conectada está una especie con el resto de las especies de su propio módulo) y **c** (cómo de bien conectada está una especie con especies de otros módulos) (Guimerà & Amaral, 2005a; Olesen *et al.*, 2007). A partir de estos parámetros, se clasificó cada especie de la red en cuatro categorías establecidas por Olesen *et al.* (2007): **conectores** ($c \geq 0,62$; conectan módulos entre sí), **nexos de módulo** ($z \geq 2,5$; conectan especies dentro de un mismo módulo), **nexos de red** ($c \geq 0,62$ y $z \geq 2,5$; conectan módulos entre sí y especies dentro de su propio módulo) y **periféricas** (resto de especies, sin relevancia ecológica en la red).

Por último cabe indicar que para obtener una perspectiva a mayor escala, se analizó la modularidad de 51 redes de polinización obtenidas de Olesen *et al.* (2007), de diversas localidades del mundo (Argentina, Australia, Azores, Canadá, Canarias, Chile, Dinamarca, Galápagos, Grecia, Groenlandia, Jamaica, Japón, Mallorca, Mauricio, Nueva Zelanda, España peninsular, Suecia, EE.UU. y Venezuela), para identificar el papel ecológico de otros integrantes de la tribu **Anthidiini** y, más concretamente, de las especies del género *Rhodanthidium* en otras redes. Con esta finalidad, se utilizaron los parámetros **z** y **c** para determinar la categoría, dentro de sus respectivas redes, de las diferentes especies de Anthidiini implicadas.

CAPÍTULO 1

Filogenia de especies de abejas nidificantes en caracoles: el ejemplo de los *Rhodanthidium* Isensee, 1927 del Mediterráneo Occidental.



Basado en el siguiente artículo: Romero, D., Ornos, C. & Vargas, P. Phylogeny of snail-nesting bees: the example of the *Rhodanthidium* Isensee, 1927 from the West Mediterranean. Enviado a *Systematic Entomology*.

RESUMEN

Los estudios filogenéticos en distintas especies de abejas (Hymenoptera, Apoidea) han ampliado, en gran medida, lo que se conoce acerca de estos insectos, en aspectos tan diversos como las relaciones de los distintos taxones (familia, género, especie), la evolución de la eusociabilidad, la evolución de las relaciones polinizador-planta o la identificación de sus ancestros. El género *Rhodanthidium* Isensee, 1927 (Hymenoptera, Megachilidae), de distribución paleártica, está formado por, al menos, once especies con comportamientos muy diversos, incluyendo, en varios de sus representantes, la nidificación en conchas de caracol. La clasificación del género ha ido cambiando desde que fue descrito por primera vez y, a tenor de las contradicciones entre datos morfológicos y moleculares, su clasificación subgenérica, hasta ahora, no parece tener una base filogenética consistente. En este estudio, se presenta una filogenia molecular del género, con representación de todas las especies del Mediterráneo Occidental, basada en análisis de máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana. Los resultados obtenidos confirman: (1) la falta de monofilia de *Rhodanthidium*; (2) las cuatro especies nidificantes en caracoles forman un grupo monofilético bien definido; y (3) las relaciones de grupos hermanos muestran que *R. sticticum* y *R. siculum* compartieron un antepasado común más reciente, después con *R. septemdentatum* y, basal a todas las demás, *R. infuscatum*. De acuerdo con las filogenias resultantes, se propone la división de las especies en dos géneros: (1) *Rhodanthidium*, que incluye la especie tipo (*R. siculum*) y las tres especies más próximas (*R. sticticum*, *R. septemdentatum* y *R. infuscatum*), es decir, las especies nidificantes en Gasterópodos; y (2) *Meganthidium*, formado por la especie tipo (*R. glasunovi*) de este género y el resto de las especies analizadas.

ABSTRACT

Phylogenetic studies of bees (Hymenoptera, Apoidea) have greatly expanded our knowledge on these insects, in as diverse ways as taxa relationships (at family, genus or species level), evolution of eusociality, host-plant evolution and identifying bee ancestors. The genus *Rhodanthidium* Isensee, 1927 (Hymenoptera, Megachilidae) is a Palearctic group of bees that includes, at least, eleven species with very diverse behaviour patterns, including snail-nesting by some species. The classification of the genus has changed since it was first described and, based on contradictory morphological and molecular data, the current subgeneric classification does not seem to reflect consistent phylogenetic lines. Here, we present a molecular phylogeny of the genus, with representatives of all the western Mediterranean species, based on maximum likelihood and Bayesian inference analyses. Our results confirm: (1) the lack of monophyly of *Rhodanthidium*; (2) the four the snail-nesting bees form a well defined monophyletic group; and (3) the relationships between sister groups show that *R. siculum* and *R. sticticum* shared a most common recent ancestor, then with *R. septemdentatum* and *R. infuscatum* being the most basal species. Based on the phylogenies obtained, we propose the division of the species into two genera: (1) *Rhodanthidium*, which includes the type species (*R. siculum*) and the three closest species (*R. sticticum*, *R. septemdentatum* and *R. infuscatum*), all four snail-nesting species; and (2) *Meganthidium*, formed by the type species (*R. glasunovi*) and the rest of the analyzed species.

INTRODUCTION

Phylogenetic relationships among bees have boosted over the past 20 years thanks to molecular techniques (Danforth *et al.*, 2013; Hedtke *et al.*, 2013). This explosion of evolutionary studies on bees has shed light on the sister group to the bees (Pilgrim *et al.*, 2008; Peters *et al.*, 2017), relationships at the family-level in bees (Danforth *et al.*, 2006; Hedtke *et al.*, 2013), evolution and antiquity of eusociality (Cardinal & Danforth, 2011; Woodward *et al.*, 2011) and host-plant evolution (Sedivy *et al.*, 2008; Renner & Schaefer, 2010; Blanco-Pastor *et al.*, 2015). It has also allowed unravelling relationships among bee families, subfamilies and many tribes (Rasmussen & Cameron, 2010; Litman *et al.*, 2016; Trunz *et al.*, 2016; Ferrari *et al.*, 2017, 2020; Dorchin *et al.*, 2018; Bossert *et al.*, 2020). Due to the importance of bees for the pollination of wild plants and crops, this interest in their evolutionary history is not a surprise, but the amount of unknown relationships, especially at lower levels (genera, species and subspecies) is still unclear.

The Megachilid genus *Rhodanthidium* Isensee, 1927 (Hymenoptera, Apoidea) is a Palearctic group of bees that includes, at least, between eleven (Michener, 2007) and thirteen species (Kasperek, 2019). The distribution of this genus has a western Palearctic range, but one of the species, *R. glasunovi* (Morawitz, 1893), inhabits Central Asia (Murao *et al.*, 2015). The rest of the species are distributed in the western Mediterranean (*R. infuscatum* (Erichson, 1839), *R. siculum* (Spinola, 1838) and *R. sticticum* (Fabricius, 1787)) (Ornosa *et al.*, 2008), East Mediterranean and Middle East (*R. aculeatum* (Klug, 1832), *R. acuminatum* (Mocsáry, 1884), *R. buteum* (Warncke, 1980), *R. exsectum* (Pasteels, 1969) and *R. superbum* (Radoszkowski, 1876)) (Grace, 2010) and both regions (*R. caturigense* (Giraud, 1863) and *R. septemdentatum* (Latreille, 1809)) (Ornosa *et al.*, 2008; Grace, 2010).

Although the common features among the species are scarce, according to Michener (2007) those are abundant yellow or reddish-yellow markings, a lack of carinae, the straight subantennal sutures, the rounded or laterally sharp scutellum not or little overhanging the metanotum, the presence of arolia, the strongly trifold male seventh tergum, the male gonostyli with apices simple or having two small teeth and the male sterna, which are not greatly modified. The biology and behaviour of the majority of species are mostly unknown, especially of the eastern species which are almost completely unexplored. The western

species (*R. caturigense*, *R. infuscatum*, *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum*) have been studied in detail: taxonomy and nesting patterns (Pasteels, 1977; Erbar & Leins, 2017; Romero *et al.*, 2020a), territorial behaviour (Nachtigall, 1997a, b; Romero *et al.*, 2020d) and role in pollination ecology (Vargas *et al.*, 2017; Beltrán & Traveset, 2018; Romero *et al.*, 2020b). Among them, *R. infuscatum*, *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum* share a series of particular behaviour patterns, like territoriality, polylecty and nesting (inside empty snail shells), that stand out (Pasteels, 1977; Müller, 1996; Nachtigall, 1997a, b; Erbar & Leins, 2017; Romero *et al.*, 2020a, d).

Since the description of the genus by Isensee (1927), the subgenera and species have had numerous taxonomic reorganizations (Michener, 1948; Popov, 1950; Mavromoustakis, 1958, 1962; Pasteels, 1969; Warncke, 1980; Michener & Griswold, 1994; Michener, 2007). The genus is divided into three subgenera at present: *Rhodanthidium* (seven species), *Asianthidium* Popov, 1950 (three species) and *Meganthidium* Popov, 1950 (one species), based exclusively on morphological characters (Michener & Griswold, 1994; Michener, 2007). However, the current subgeneric classification does not seem to reflect consistent phylogenetic clades, as not all character states are shown by all members of the subgenus (Kasperek, 2019). A recent study on the phylogeny of the tribe Anthidiini, based on five nuclear genes, included a few *Rhodanthidium* representatives, but enough species to infer lack of monophyly for the genus (Litman *et al.*, 2016).

Here, we present a phylogeny of the genus based on Bayesian inference and maximum likelihood analyses of nuclear DNA sequences from seven representative species of the genus *Rhodanthidium*, including representatives of its three subgenera. The aim of this study is to infer the relationship of the species, with a particular focus on material from the western Mediterranean. Our working hypothesis is that the four snail-nesting *Rhodanthidium* species form a well defined clade. To test this hypothesis, three objectives are addressed: (i) to assess the relationships between species of the different subgenera, (ii) to determine the position of the western *Rhodanthidium* species in the phylogeny of the Anthidiini, and (iii) to investigate sister-group relationships.

MATERIAL AND METHODS

Taxon sampling

To perform a phylogenetic analysis, we chose a total of 33 individuals of the genus *Rhodanthidium*: one *R. glasunovi*, three *R. infuscatum*, four *R. caturigense*, five *R. siculum*, seven *R. septemdentatum* and 13 *R. sticticum* (two of them of the subspecies *R. sticticum ordonezi* Dusmet, 1915). Individuals were obtained from authors' field surveys, the Entomology Collection of the Complutense University of Madrid (UCME), the University of Salamanca Collection, Javier Ortiz's Collection and the samples sent by Sihem Aguib, Vittorio Nobile, Petr Bogusch and Ryuki Murao. After preliminary analyses, several samples were discarded due to bad conservation and degraded DNA. Finally, 24 individuals were used for molecular analyses: one *R. glasunovi*, one *R. infuscatum*, four *R. siculum*, six *R. septemdentatum* and 12 *R. sticticum* (including the two *R. sticticum ordonezi*) (**Table 1**). Besides, a dataset of 21 sets of sequences of the so called *Dianthidium* group (including *R. caturigense*, *R. septemdentatum* and *R. superbum*), obtained from the GenBank (Litman *et al.*, 2016) was analyzed.

Molecular dataset and alignment

Total genomic DNA was extracted from thoracic muscle, when possible, or from the hind legs, using the DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN). We sequenced a total of 6,961 base pairs from four nuclear protein-coding genes (CAD, 1,022 base pairs; EF1-alpha, F2 copy, 1,682 base pairs; LW-rhodopsin, 983 base pairs; NAK, 1,519 base pairs) and one nuclear ribosomal gene (28S, 1,755 base pairs). PCR primers and conditions for CAD, NAK, LW-rhodopsin, and 28S were identical to those listed in Table S3 from Litman *et al.* (2011). For EF1-alpha, PCR primers and conditions were identical to those indicated by Litman *et al.* (2016).

PCR products were sequenced by Macrogen Spain. Sequences were aligned, manually adjusted and concatenated using MAFFT 7.450 (Katoh *et al.*, 2002) implemented in the Geneious 5.1.7 software (Drummond *et al.*, 2010).

Table 1. Taxon list, collection date and localities for specimens of *Rhodanthidium* bees used in this study. The sequences obtained from Litman *et al.* (2016) are marked with an asterisk (*).

Species	Country	Locality	Province	Date
<i>R. caturigense</i> *	Switzerland	Euseigne	Valais	25/06/2011
<i>R. glasunovi</i>	Kirguistan	Jangy-Talap	Naryn Province	12/06/2014
<i>R. infuscatum</i>	Spain	Foz de Lumbier	Navarra	08/07/2008
<i>R. septemdentatum</i>	Czech Rep.	Županovice	Central Bohemia	2016
<i>R. septemdentatum</i> *	Greece	Stegna	Rhodes	08/05/2005
<i>R. septemdentatum</i>	Malta			02/05/1975
<i>R. septemdentatum</i>	Spain	Castellbell i el Vilar	Barcelona	02/06/2016
<i>R. septemdentatum</i>	Spain	Esporles	Balearic Islands	27/05/2016
<i>R. septemdentatum</i>	Spain	Port des Canonge	Balearic Islands	27/05/2016
<i>R. septemdentatum</i>	Spain	Tarragona aqueduct	Tarragona	03/06/2016
<i>R. siculum</i>	Algeria	Aïn Beïda	Oum El Bouaghi	10/04/2014
<i>R. siculum</i>	Algeria	Djebel El Wahch	Constantina	14/05/2015
<i>R. siculum</i>	Portugal	Castro Marím	Algarve	27/03/2017
<i>R. siculum</i>	Portugal	Castro Marím	Algarve	27/03/2017
<i>R. sticticum</i>	Algeria	El Hamma	Jenchela	19/05/2015
<i>R. sticticum</i>	Algeria	El Khroub	Constantina	09/05/2015
<i>R. sticticum</i>	Italy	Ragusa	Sicily	10/06/2008
<i>R. sticticum</i>	Morocco	Chefchaouen	Chefchaouen	08/04/2017
<i>R. sticticum</i>	Morocco	Taza	Taza	11/04/2017
<i>R. sticticum</i>	Portugal	Castro Marím	Algarve	27/03/2017
<i>R. sticticum</i>	Spain	Cuenca	Cuenca	12/05/2016
<i>R. sticticum</i>	Spain	Espiel	Córdoba	20/04/2016
<i>R. sticticum</i>	Spain	Esporles	Balearic Islands	28/05/2016
<i>R. sticticum</i>	Spain	Sagunto	Valencia	11/05/2016
<i>R. sticticum ordonezi</i>	Morocco	Azrou	Ifrane	13/04/2017
<i>R. sticticum ordonezi</i>	Morocco	Azrou	Ifrane	13/04/2017
<i>R. superbum</i> *	Iran	Margoon waterfall	Yasuj Region	29/05/2009

Maximum likelihood and Bayesian inference analyses

Prior to the molecular phylogenetic reconstruction, jModelTest 2.1.10 (Posada, 2008) was used to determine the simplest model of sequence evolution that best fits the sequence data. Bayesian inference analyses (BI) were carried out in MrBayes 3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) implemented in the CIPRES Science Gateway (Miller *et al.*, 2010). Single loci and multilocus analyses were undertaken, using GTR+G (multilocus analysis, 28S and NAK), HKY85+G (EF1-alfa and LW-rhodopsin) and K80+G+I (CAD) for two searches with 10 million generations each, a sample frequency of 1,000 and 20% of the trees were discarded as burn-in. Maximum likelihood analyses (ML) were performed using the online software PhyML 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003; Guindon *et al.*, 2010), implemented in the ATGC

bioinformatics platform (<http://www.atgc-montpellier.fr>); 1000 bootstrap replicates were undertaken using the rapid bootstrap analysis. Trees were visualized in FigTree 1.4.4 (Rambaut, 2012).

RESULTS

Single loci analyses

Our results showed that the power of resolution of each of the five single-locus analyses (**Figs. S1-S5**) was relatively high, but varied between the different genes. In general, ML yielded best resolved trees than BI, but less supported. Considering the different genes, analyses of CAD and NAK (**Figs. S2, S4**) gave very good resolved trees, whereas EF1a and lw-rhodopsin were less precise (**Figs. S3, S5**). The 28S phylogeny was well resolved in the ML analyses (**Fig. S1b**), but was the poorest for BI (**Fig. S1a**). In general, the efficiency of the five genes at resolving the deeper relationships was high.

Overall, the phylogenetic signal was congruent across single-locus datasets (**Figs. S1-S5**). Despite of that, EF1a and LW-rhodopsin (**Figs. S3, S5**) yielded the most incongruent topologies in comparison to the trees resulting from the multilocus analyses, whereas CAD, NAK and BI (**Figs. S1, S2, S4**) were completely congruent with the multilocus dataset analyses.

Multilocus analyses

The Bayesian inference (**Fig. 1**) and maximum likelihood (**Fig. 2**) analyses conducted with the multilocus dataset resulted in resolved trees with very similar topologies. In both analyses, the results showed the polyphyly of the genus *Rhodanthidium*, with *R. infuscatum*, *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum* forming a well supported clade. In the BI analysis (**Fig. 1**), *Cyphanthidium intermedium* Pasteels, 1969 and *Icteranthidium ferrugineum* (Fabricius, 1787) were the sister species to the clade, whereas the ML analysis (**Fig. 2**) showed *Pachyanthidium* Friese, 1905 and *Plesianthidium* Cameron, 1905 as sister groups. In the outcomes of both analyses, *R. caturigense*, *R. glasunovi* and *R. superbum* formed an

independent clade, sister to the clade in which the snail-nesting *Rhodanthidium* species were, although node support was low.

In both analyses, *R. sticticum ordonezi* did not show any differences with the rest of *R. sticticum* samples, thus this taxon did not form a separate specific clade. Similarly, all *R. septemdentatum* samples clustered together in a well defined clade.

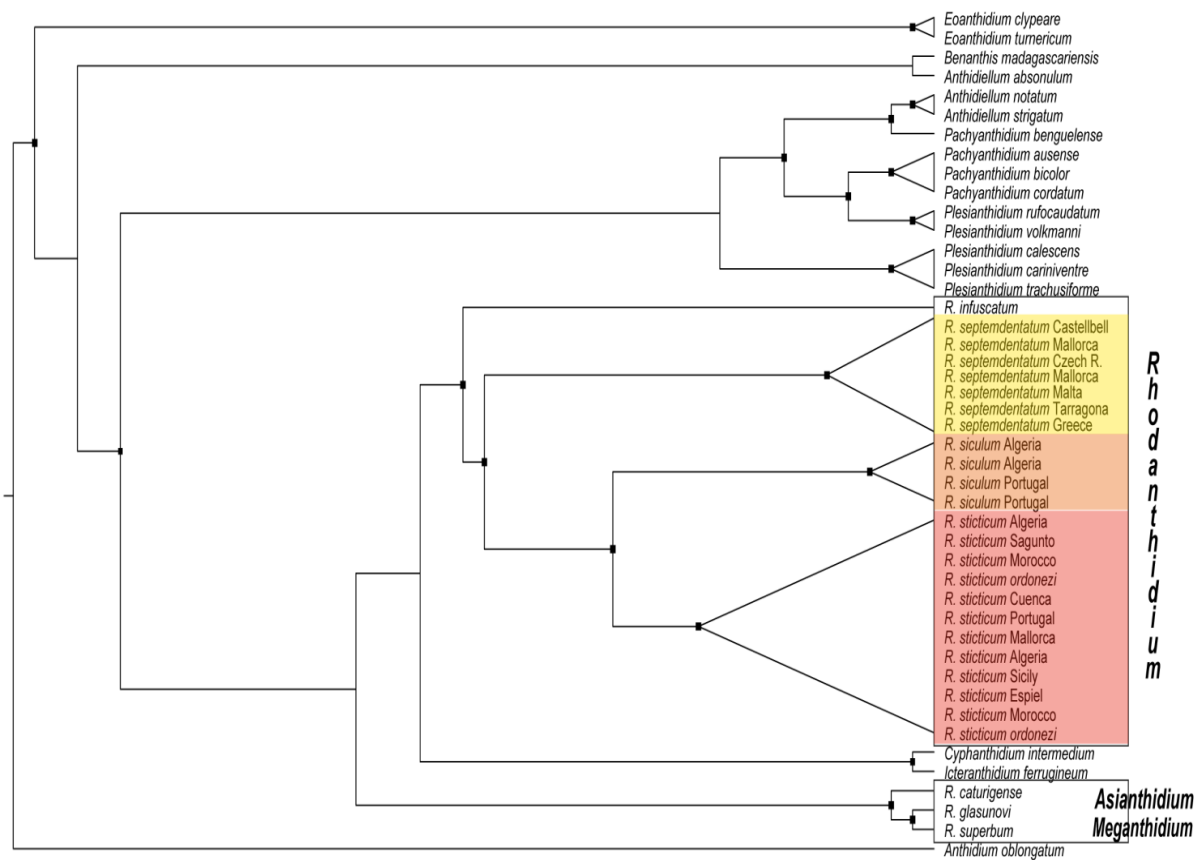


Figure 1. Bayesian tree obtained from the MrBayes analysis of the multilocus dataset. Posterior probability is shown when they are higher than 0.9 as black squares. *Rhodanthidium septemdentatum* is depicted in yellow, *R. siculum* in orange and *R. sticticum* in red.

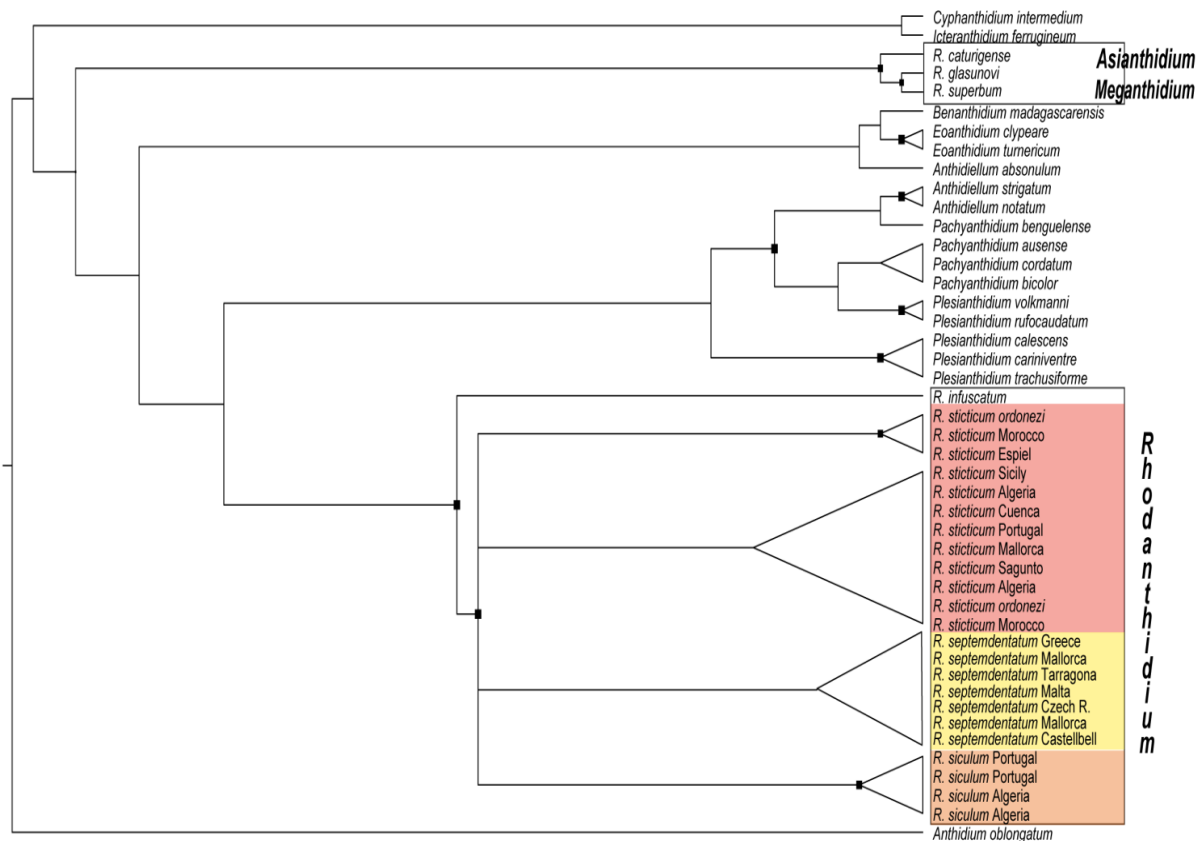


Figure 2. Maximum likelihood tree obtained through analysis of the multilocus data matrix in PhyML. Bootstrap support values are shown when they are higher than 0.7 as black squares. *Rhodanthidium septemdentatum* is depicted in yellow, *R. siculum* in orange and *R. sticticum* in red.

DISCUSSION

Bayesian inference (BI) and maximum likelihood (ML) multilocus analyses show congruent phylogenetic results. Although the ML shows a large polytomy for the *Rhodanthidium* species, the monophyly of the snail-nesting *Rhodanthidium* species (*R. infuscatum*, *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum*) is well supported (**Figs. 1, 2**). In addition, the two analyses show that *R. infuscatum* is sister to the other three species. Both analyses also show another clade formed by three *Rhodanthidium* species of the subgenera *Meganthidium* (*R. superbum*) and *Asianthidium* (*R. caturigense* and *R. glasunovi*). These results challenge a previous analysis, based on morphological characters, which placed all the *Rhodanthidium* species in the same group, with *R. superbum* as sister to the snail-nesting *Rhodanthidium* (Müller, 1996).

Phylogeny of *Rhodanthidium*

As we stated previously, our results support that the genus *Rhodanthidium* is not monophyletic (Litman *et al.*, 2016) because it is formed by two independent clades: one clade of snail-nesting species of *Rhodanthidium* (subgenus *Rhodanthidium*), sister to the genera *Cyphanthidium* Pasteels, 1969 and *Icteranthidium* Michener, 1948 (Litman *et al.*, 2011, 2016), and one more clade with the remaining species of *Rhodanthidium*, included in the subgenera *Asianthidium* and *Meganthidium* (Michener & Griswold, 1994; Michener, 2007). *Rhodanthidium superbum* is the only member of the subgenus *Meganthidium* (Popov, 1950), which makes paraphyletic the two species of the subgenus *Asianthidium* used in this study (*R. aculeatum* and *R. glasunovi*) (Figs. 1, 2). Besides, morphological similarities of *R. spuerbum* with *R. glasunovi* (Kasperek, 2019), the type species of the subgenus *Asianthidium*, as well as with *R. aculeatum* (Mavromoustakis, 1962), are noteworthy. Therefore, systematics based on taxonomy and phylogenetic analyses of DNA sequences suggest clustering together *R. glasunovi*, *R. superbum* and *R. caturigense*. Maximum parsimony analyses of morphological characters (Müller, 1996) were partly in agreement, as they showed the snail-nesting *Rhodanthidium* forming a well defined group, but the relationship between *Asianthidium* and *Meganthidium* was different. According to the study by Müller (1996), the genus *Rhodanthidium* forms a monophyletic clade together with the genera *Anthidiellum* Cockerell, 1904 and *Eoanthidium* Popov, 1950, having *R. aculeatum* as the sister species to the whole *Rhodanthidium* + *Anthidiellum* + *Eoanthidium* clade. However, the study by Müller (1996) focuses on Palearctic species only, while Litman's molecular phylogeny includes representatives of all Anthidiini genera and subgenera (Litman *et al.*, 2016). A morphological phylogeny of the Megachilidae (González *et al.*, 2012) placed *R. septemdentatum* as the sister species to a clade formed by several different species, including *I. ferrugineum*, but not with *Anthidiellum* or *Eoanthidium*. Incongruence between molecular and morphological data in bee phylogenies is common (Porto *et al.*, 2016; Bossert *et al.*, 2020; Ferrari *et al.*, 2020) and caused, frequently, by the choice of homoplasious traits as diagnostic characters (Dorchin *et al.*, 2018).

New generic and subgeneric classification

Considering the results presented here and the previous taxonomic and phylogenetic studies on *Rhodanthidium* and relatives, we propose a new classification of the genus (**Table 2**). The genus *Rhodanthidium* would remain integrated by the species belonging to the previous subgenus *Rhodanthidium*, where the type species (*R. siculum*) is, whereas the subgenera *Meganthidium* and *Asianthidium* would be merged into the genus *Meganthidium* Popov, 1950. *Rhodanthidium infuscatum* is sister to the lineage of the other three snail-nesting *Rhoanthidium* species and shows morphological differences (Michener, 2007), and thus it could be claimed a monospecific subgenus (*Bellanthidium* Pasteels, 1969) for this species (Pasteels, 1969). However, Michener (2007) proposed not to do so, as the morphological similarities with the rest of species of the subgenus *Rhodanthidium* were clear.

Table 2. New generic classification proposed for *Rhodanthidium* and nesting behaviour of the species.

Genus	Subgenus	Species	Nesting behaviour
<i>Meganthidium</i>	<i>Asianthidium</i>	<i>M. aculeatum</i>	Unknown
		<i>M. caturigense</i>	Soil
		<i>M. glasunovi</i>	Unknown
	<i>Meganthidium</i>	<i>M. superbum</i>	Unknown
<i>Rhodanthidium</i>		<i>R. acuminatum</i>	Unknown
		<i>R. buteum</i>	Unknown
		<i>R. exsectum</i>	Unknown
		<i>R. infuscatum</i>*	Empty snail shells
		<i>R. septemdentatum</i>	Empty snail shells
		<i>R. siculum</i>	Empty snail shells
		<i>R. sticticum</i>	Empty snail shells

(*) The subgenus *Bellanthidium* could be created for *R. infuscatum*.

Intraspecific level: subspecies and species complex

Among all the samples, two individuals had been previously identified as *R. sticticum ordonezi*, which is a subspecies endemic to Morocco. The subspecies was first described as an independent species, morphologically more similar to *R. septemdentatum* than to *R. sticticum* (Dusmet, 1915), despite the absence of *R. septemdentatum* in the North of Africa, but after a revision of the genus by Pasteels (1969) it was assigned the status of subspecies. However, it was recently reaffirmed as a species of its own based on discrimination analyses

of coloration and minor morphological traits (Kasperek & Lhomme, 2019). Our results here, however, do not show any differences in genetic and phylogeographic analyses that included samples of *R. sticticum sticticum* and *R. sticticum ordonezi*. Considering these results, together with the existence of mitochondrial unique haplotypes closely related to a *R. sticticum* ancestral haplotype (Romero *et al.*, 2020c), we propose *R. sticticum ordonezi* as a valid subspecies rather than deserving a species status.

Also, populations of *R. septemdentatum* from western Mediterranean and Central Europe analyzed here do not support a species complex (Kasperek, 2019), as all of the sequences are undoubtedly assigned to the *R. septemdentatum* group. Nevertheless, further investigation with populations from the eastern Mediterranean and the Middle East will give us a better idea of the populations and species temporarily assigned to *R. septemdentatum*. On the other hand, our Maltese population does not belong to *R. rufocinctum* (Alfken, 1930), as suggested by Kasperek (2019); it is clearly *R. septemdentatum* and related to Sicilian populations (Romero *et al.*, 2020c).

Snail-nesting in bee evolutionary history

The use of Gastropod shells for nesting and sheltering by bees is exclusive of the Megachilidae family, except for a few genera of the Anthidiini and the Osmiini (Pasteels, 1977; Gess & Gess, 1999, 2008; Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Müller *et al.*, 2018; Kuhlmann *et al.*, 2011; Müller & Mauss, 2016). In the Osmiini, this behaviour has independently evolved at least twelve times, spreading through 56 species belonging to four genera and 14 subgenera (Müller *et al.*, 2018). In the evolutionary history of the Anthidiini, snail-nesting has appeared at least three times: once in *Rhodanthidium* (subgenus *Rhodanthidium*) (Pasteels, 1977; Erbar & Leins, 2017; Romero *et al.*, 2020a, 2020d) and twice in the genus *Afranthidium* Michener, 1948 (subgenus *Afranthidium* and subgenus *Oranthidium*) (Gess & Gess, 1999, 2008). The nesting behaviour of the remaining species of the *Rhodanthidium* s. str. is still unknown (**Table 2**); therefore, we cannot ensure that all the species belonging to it are snail-nesting.

CONCLUSIONS

The genus *Rhodanthidium* is not monophyletic, in perspective of the phylogenetic analysis (BI, ML) performed, because the seven species sequenced herein cluster together in two independent clades. In the interest of a natural classification, the genus *Rhodanthidium* has to include *R. siculum* (type species) and a few species of the same clade, whereas the other species should be included in the genus *Meganthidium* (either in the subgenera *Asianthidium* or *Meganthidium*). The snail-nesting *Rhodanthidium* bees (*R. infuscatum*, *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum*) form a well supported clade, thus suggesting that nesting inside empty Gastropod shells is a behaviour pattern that only appeared once in the evolution of *Rhodanthidium*. There is no phylogenetic evidence to recognize *Rhodanthidium ordonezi* as a well-supported species, and thus we propose a subspecies status within *R. sticticum* (*R. sticticum ordonezi*). Western and central European *R. septemdentatum* populations do not show evidence for recognition of a complex of species. The same is true for the population of *R. septemdentatum* from Malta, which does not show evidence of being a different species. Further research is needed to confirm the generic assignation of the species from the East, to assess the nesting behaviour of the remaining *Rhodanthidium* species and to determine the specific status of *R. septemdentatum* populations from the Middle East and eastern Mediterranean areas.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

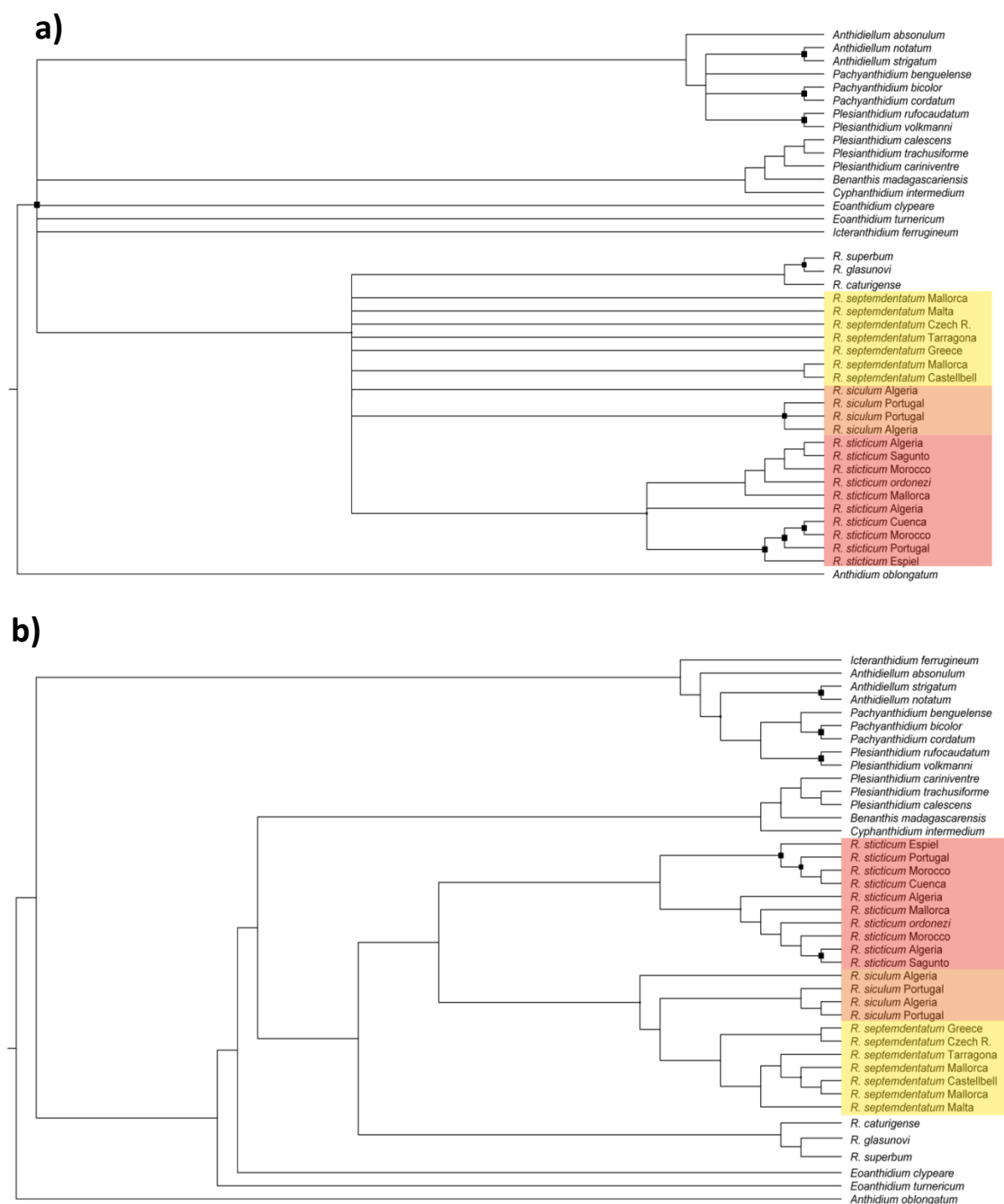


Figure S1. (a) Bayesian tree obtained through analysis of the gene 28S in MrBayes. Posterior probability is shown when it is higher than 0.9 as black squares. (b) Maximum likelihood tree obtained through analysis of the gene 28S in PhyML. Bootstrap support values are shown when they are higher than 0.7 as black squares. *Rhodanthidium septemdentatum* is depicted in yellow, *R. siculum* in orange and *R. sticticum* in red.

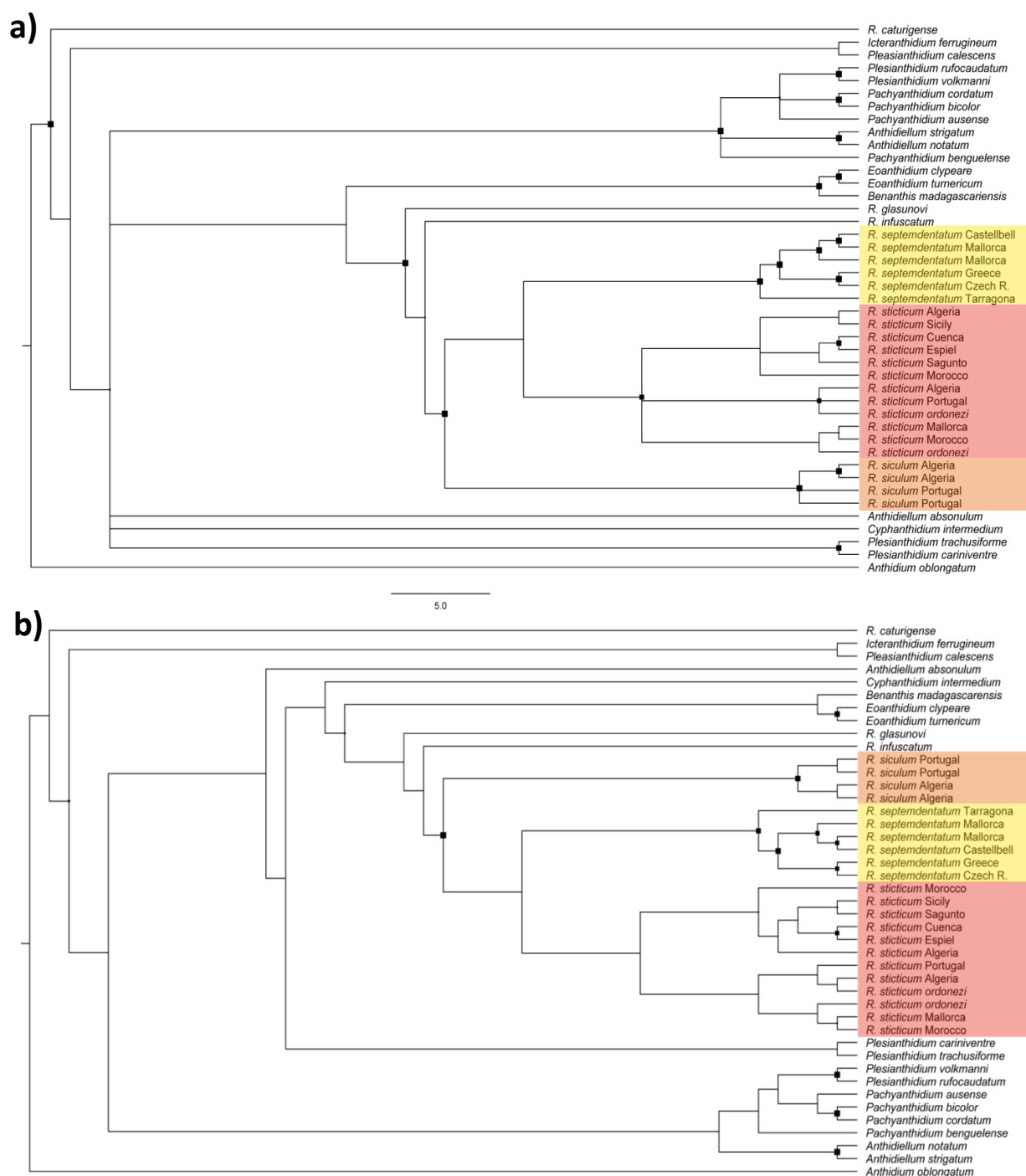


Figure S2. (a) Bayesian tree obtained through analysis of the gene CAD in MrBayes. Posterior probability is shown when it is higher than 0.9 as black squares. (b) Maximum likelihood tree obtained through analysis of the gene CAD in PhyML. Bootstrap support values are shown when they are higher than 0.7 as black squares. *Rhodanthidium septemdentatum* is depicted in yellow, *R. siculum* in orange and *R. sticticum* in red.

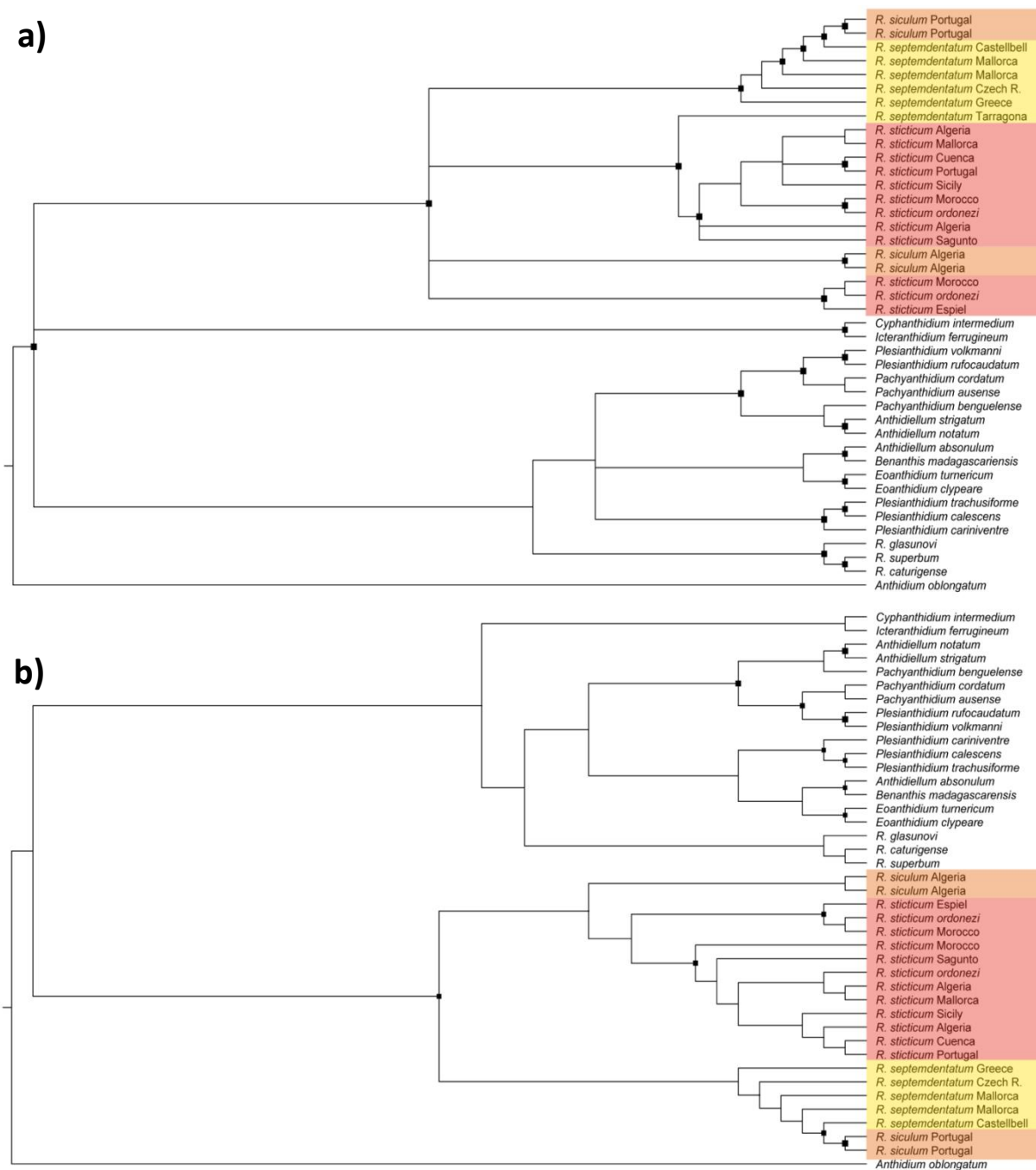


Figure S3. (a) Bayesian tree obtained through analysis of the gene EF1-a in MrBayes. Posterior probability is shown when it is higher than 0.9 as black squares. (b) Maximum likelihood tree obtained through analysis of the gene EF1-a in PhyML. Bootstrap support values are shown when they are higher than 0.7 as black squares. *Rhodanthidium septemdentatum* is depicted in yellow, *R. siculum* in orange and *R. sticticum* in red.

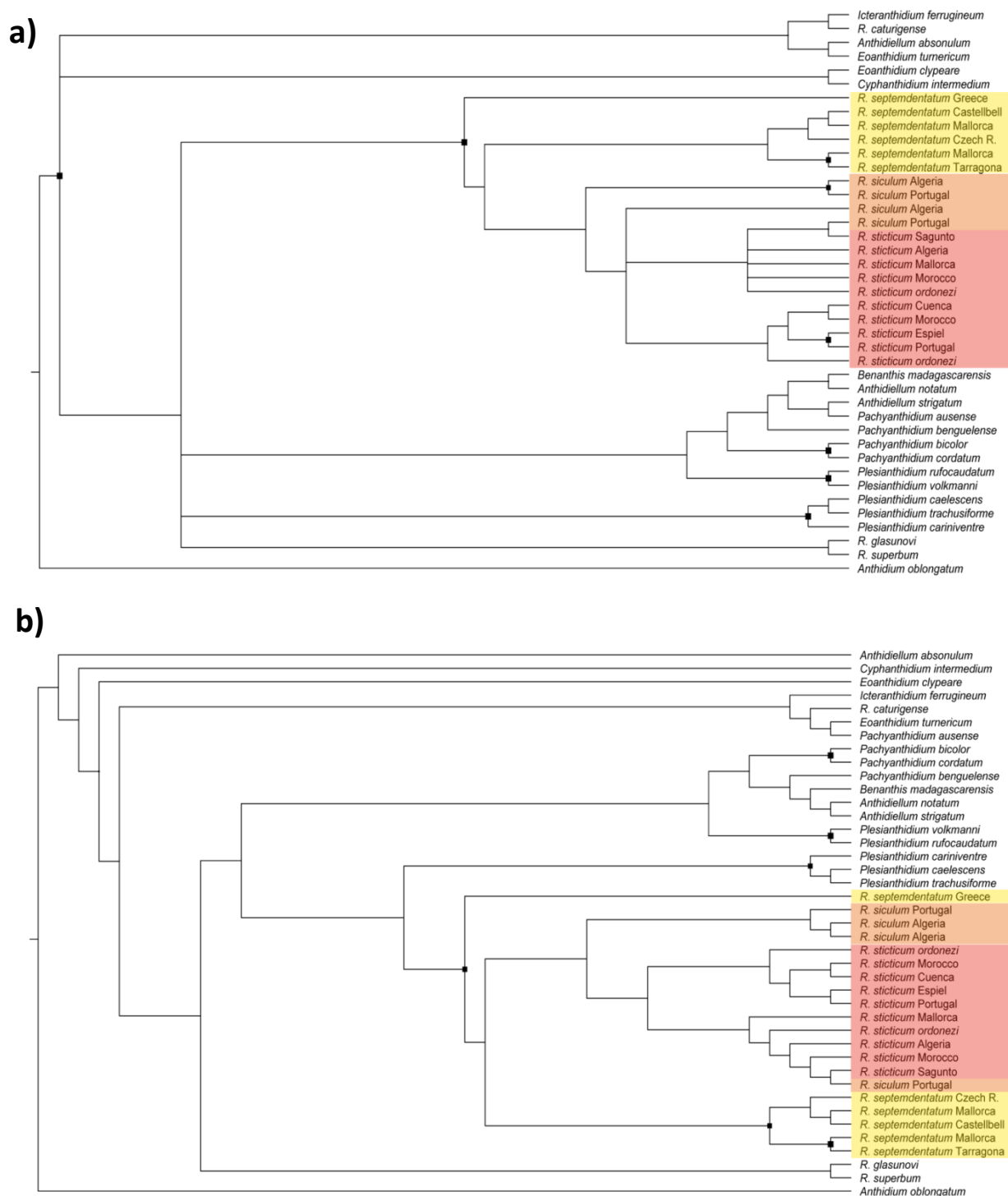


Figure S4. (a) Bayesian tree obtained through analysis of the gene NAK in MrBayes. Posterior probability is shown when it is higher than 0.9 as black squares. (b) Maximum likelihood tree obtained through analysis of the gene NAK in PhyML. Bootstrap support values are shown when they are higher than 0.7 as black squares. *Rhodanthidium septemdentatum* is depicted in yellow, *R. siculum* in orange and *R. sticticum* in red.

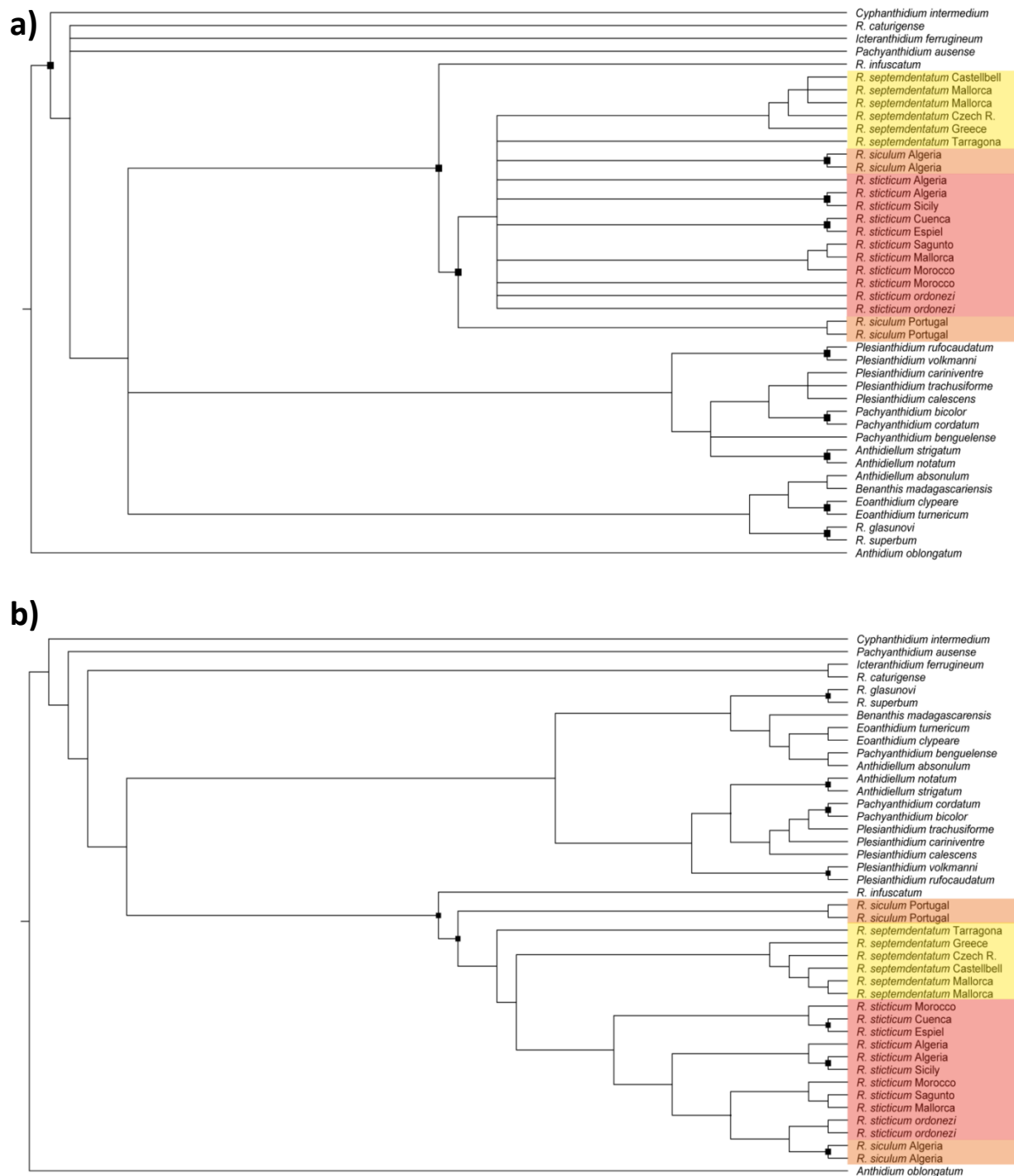


Figure S5. (a) Bayesian tree obtained through analysis of the gene LW-rhodopsin in MrBayes. Posterior probability is shown when it is higher than 0.9 as black squares. (b) Maximum likelihood tree obtained through analysis of the gene lw-rhodopsin in PhyML. Bootstrap support values are shown when they are higher than 0.7 as black squares. *Rhodanthidium septemdentatum* is depicted in yellow, *R. siculum* in orange and *R. sticticum* in red.

CAPÍTULO 2

Filogeografía comparada de tres especies próximas de *Rhodanthidium* Isensee, 1927 (Hymenoptera: Megachilidae) en el Mediterráneo Occidental.



Basado en el siguiente artículo: Romero, D., Ornos, C. & Vargas, P. Comparative phylogeography of three closely related species of *Rhodanthidium* Isensee, 1927 (Hymenoptera: Megachilidae) across the western Mediterranean. Enviado a *Molecular Ecology*.

RESUMEN

El conjunto de las especies de abejas en general, y de las especies solitarias en particular, posee una gran diversidad específica y genética en la cuenca mediterránea, pero apenas hay estudios que se hayan centrado en cuestiones como su evolución o sus patrones filogeográficos. En este trabajo, se analizaron 305 secuencias de la región mitocondrial del citocromo oxidasa II (COII), de tres especies próximas de *Rhodanthidium* Isensee, 1927 (*Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum*), que poseen características biológicas y ecológicas similares. En concreto, las tres especies pertenecen a la familia Megachilidae, forman parte del mismo grupo filogenético y son solitarias, territoriales y anidan en conchas de Gasterópodos. Los resultados filogenéticos, las redes de haplotipos, la distribución de haplogrupos y linajes y la diversidad genética obtenidas en los análisis muestran que las poblaciones de las tres especies forman grupos monofiléticos y tienen niveles altos de conectividad entre áreas geográficas. Este patrón tan marcado de colonización recurrente entre áreas, después de la divergencia de las tres especies de *Rhodanthidium*, parece ser el resultado de unas condiciones ecológicas comunes: las preferencias climáticas (por el clima mediterráneo), el comportamiento poliléctico y la existencia de amplias extensiones calizas en la cuenca mediterránea, con abundantes conchas de Gasterópodos del tamaño adecuado para nidificar y refugiarse. Además, el uso de conchas de Gasterópodos podría, también, haber favorecido la dispersión en balsas, a través del mar. No obstante, otros requerimientos ecológicos podrían ser responsables de las diferencias en la estructura geográfica de las tres especies: *R. siculum* en las zonas más cálidas y secas del Mediterráneo; *R. septemdentatum* en zonas con clima mediterráneo pero también más continentales, llegando a Europa Central; y *R. sticticum* en áreas con clima típicamente mediterráneo. En relación a esto, *R. siculum* y *R. septemdentatum* presentan una mayor diversidad de haplotipos, mientras que *R. sticticum* posee una diversidad y una estructura genéticas relativamente más bajas, aunque presenta una amplia distribución para algunos de sus haplotipos. Por otro lado, teniendo en cuenta la existencia de numerosos linajes y haplotipos compartidos entre unidades geográficas aisladas, probablemente hubo colonización recurrente, en las tres especies, en distintos periodos de tiempo. Las islas mediterráneas, a diferencia de las zonas continentales, muestran un aislamiento mayor.

ABSTRACT

Bees in general, and solitary species in particular, are considered to hold high species and genetic diversities across the Mediterranean basin. However, few studies have addressed questions related to evolution and phylogeographic patterns. Here, we analyzed 305 sequences of the mitochondrial region of cytochrome oxidase II (COII) of three closely-related species of *Rhodanthidium* (*Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* and *Rhodanthidium sticticum*), which share similar biological and ecological characteristics. In particular, the three of them belong to the family Megachilidae, form part of the same phylogenetic group and are territorial, snail-nesting bees. Phylogenetic results, haplotype networks, haplogroup and lineage distributions, haplotype distributions and genetic diversity showed that the populations of the three species form monophyletic groups and have high levels of connectivity between geographic areas. This strong pattern of recurrent colonization among areas, after the divergence of the three species, appears to be the result of similar ecological conditions: climatic preferences (Mediterranean climate), a polylectic behaviour and limestone areas close to the Mediterranean basin with abundance of large Gastropod shells for nesting and sheltering. Besides, the use of shells could have favoured across-the-sea dispersion in vegetal rafts. Nevertheless, additional ecological requirements may be responsible for dissimilar species distributions: *R. siculum* in the warmest and driest areas of the Mediterranean basin; *R. sticticum* in typical Mediterranean scrub; and *R. septemdentatum* in Mediterranean and more continental climates, even reaching Central Europe. Although the three species share a most recent common ancestor, levels of genetic diversity and distribution of haplotypes reveal different geographic structures: *R. sticticum* has a rather large distribution of some haplotypes, with relatively low genetic diversity and structure, whereas *R. siculum* and *R. septemdentatum* have higher haplotype diversity and lineage structure. Given the sharing of haplotype lineages and haplotypes among isolated geographic units, we hypothesized recurrent colonization in the three species in different periods of time. Mediterranean islands show phylogeographic evidence of stronger isolation.

INTRODUCTION

The Mediterranean basin host great genetic and species diversity, which is why it is considered one of the Earth's hotspots (Cuttelod *et al.*, 2008; Médail & Diadema, 2009; Hewitt, 2011). The geologic history of the region (Rosenbaum *et al.*, 2002), source of this spectacular geographic and climatic mosaic, is also responsible for the evolutionary history of the species, its richness and distribution. Indeed, geographic isolation has been particularly effective in the Mediterranean basin, where numerous islands, peninsulas and high mountains are broadly distributed (Rundel *et al.*, 2017). As a result, a high number of narrow endemics are observed across countries of southern Europe and northern Africa because of strong spatial isolation, while many are widespread across the Mediterranean basin (Blondel *et al.*, 2010). For instance, the southern mountain ranges as Sierra Nevada, the Pyrenees or the Apennines have acted as terrestrial islands as well as physical barriers (Dennis *et al.*, 1995; Vargas *et al.*, 2013) and islands like the Balearics, Crete or the Aegean show isolation from the continent that boosted speciation (Greuter, 2001; Cox *et al.*, 2006).

Reptiles, ants, butterflies, longhorn beetles or freshwater fish are some species' rich animal groups in Southern Europe (Hawkins & Porter, 2003; Schlick-Steiner *et al.*, 2008; Baselga, 2008; Sanz *et al.*, 2015), a pattern shared with plants (Médail & Diadema, 2009). Bees are no exception to that richness. An estimated 3,000-4,000 species are found in Mediterranean communities (Petanidou & Lamborn, 2005), with more than 1,000 species and subspecies in the Iberian Peninsula and the Balearic Islands (Ortiz-Sánchez, 2011). Bumblebees are a clear example, with around 60% of all European species present in the Iberian Peninsula and several subspecies dispersed along the different mountain ranges (Ornosa & Ortiz-Sánchez, 2004; Penado *et al.*, 2016; Ornosa *et al.*, 2017).

Despite biological diversity, few studies have analyzed phylogeographic patterns of Mediterranean bees, and most of them have focused on bumblebees (Lecocq *et al.*, 2013a, b; Dellicour *et al.*, 2015a). The known examples, on bumblebees, are species that find the edge of their ranges in the southern European peninsulas, where they diversified in the mountains as climate warming forced them to retreat to northern latitudes and to climb up mountains in the South, isolating populations and creating *Bombus* Latreille, 1802 hotspots (Iserbyt & Rasmont, 2012; Ploquin *et al.*, 2013; Penado *et al.*, 2016; Ornosa *et al.*, 2017).

While social bees usually get most scientific attention, particularly *Apis* Linnaeus, 1758 species, they only represent around 15% of all bee species in the world (Batra, 1984). In contrast to the high number of bee species (around 25,000; Michener, 2007), very few studies have analyzed genetic diversity, phylogeography and evolutionary history of solitary bees: *Andrena fuscipes* (Kirby, 1802) (Exeler *et al.*, 2010), *Andrena vaga* Panzer, 1799 (Exeler *et al.*, 2008; Černá *et al.*, 2013), *Anthophora plumipes* (Pallas, 1772) (Černá *et al.*, 2017), *Anthophora villosula* Smith, 1854 (Černá *et al.*, 2017), *Colletes floralis* Eversmann, 1852 (Davis *et al.*, 2010), *Colletes hederæ* Schmidt & Westrich, 1993 (Dellicour *et al.*, 2014), *Euglossa iopoeila* Dressler, 1982 (Penha *et al.*, 2014; Frantine-Silva *et al.*, 2017), *Halictus rubicundus* (Christ, 1791) (Soro *et al.*, 2010), *Lasioglossum oenotheræ* (Stevens, 1920) (Zayed & Packer, 2007), *Macropis europaea* Wanrcke, 1973 (Triponez *et al.*, 2015), *Macropis fulvipes* (Fabricius, 1804) (Triponez *et al.*, 2015), *Osmia bicornis* (Linnaeus, 1758) (Neumann & Seidelmann, 2006; Conrad *et al.*, 2018) and *Osmia cornifrons* (Radoszkowski, 1887) (Kim *et al.*, 2008), and none have focused on Mediterranean bees, regardless of the abundance of solitary bees in temperate areas.

The family Megachilidae has 423 solitary bee species distributed in the western Mediterranean (Ornosa & Ortiz-Sánchez, 2008), 228 of them in the Iberian Peninsula and the Balearic islands (Ortiz-Sánchez, 2011), where five of the eleven species of the genus *Rhodanthidium* Isensee, 1927 are present (Ornosa & Ortiz-Sánchez, 2008). *Rhodanthidium* species have a Palearctic distribution, but the range of most of the species is the Mediterranean basin, with the Iberian and Anatolian peninsulas being the richest areas in species number (Ornosa & Ortiz-Sánchez, 2008; Grace, 2010). In this study, we focused on three species: *Rhodanthidium septemdentatum* (Latreille, 1809), *R. siculum* (Spinola, 1838) and *R. sticticum* (Fabricius, 1787). We chose those species because of similar distributions, behaviour patterns (e. g. territorial) and ecological requirements (polylecty, nesting in empty snail shells), which make them an ideal study case for comparative phylogeographic studies. Besides, they have ecological importance in Mediterranean pollination networks (Romero *et al.*, 2020b). The distributions of *R. siculum* and *R. sticticum* are circumscribed to the Mediterranean (southern Europe and northern Africa), while *R. septemdentatum* range is wider in Eurasia (western and eastern Mediterranean, Central Europe and from the Middle East to Iran, but is absent in Africa) (Ornosa & Ortiz-Sánchez, 2008). A singular characteristic

of these species is their nesting behavior, inside empty snail shells (Romero *et al.*, 2020a), only shared by another species in the genus, *R. infuscatum* (Erichson, 1835), and few species in the genera *Osmia* Panzer, 1806 and *Afranthidium* Michener, 1948 (Gess & Gess, 2008, 2014; Müller *et al.*, 2018).

Our hypothesis is that a clade of *Rhodanthidium* diverged into the three species that share morphological characters, overlapping distributions and comparable phylogeographical patterns, because they share similar biological and ecological characteristics. Our objectives are: (i) to compare patterns of intraspecific genetic variation of the three species related to their distributions in western Mediterranean areas; and (ii) to infer colonization patterns based on haplotype and haplogroup distributions.

MATERIAL AND METHODS

Sampling and mitochondrial sequencing

Sampling effort was different for the three closely-related species of *Rhodanthidium*, depending on their distributions. For *R. siculum*, 25 samples of 12 populations were obtained: one population from Malta, one from Portugal, two from Spain, three from Algeria and five from Italy. For *R. septemdentatum*, 44 samples of 24 populations were obtained: one population from Malta, one from Slovakia, three from the Czech Republic, seven from Italy and 12 from Spain. For *R. sticticum*, 236 samples of 63 populations were obtained: one population from Tunisia, one from France, two from Algeria, four from Morocco, four from Portugal, seven from Italy, and 44 from Spain. Five of the samples of *R. sticticum* were from the Moroccan subspecies *R. sticticum ordonezi* (Dusmet, 1915) (**Fig. S1**). These samples cover the whole geographic range of *R. sticticum* and *R. siculum*, and the West Mediterranean distribution of *R. septemdentatum* (Ornosa *et al.*, 2008). Individuals were obtained from the authors' field surveys, the Entomology Collection of the Complutense University of Madrid (UCME), the Royal Botanical Garden of Madrid Collection, the University of Salamanca Collection, Javier Ortiz's Collection and the samples sent by Jordi Bosch (Spain), Sihem Aguib (Algeria), Vittorio Nobile (Italy and Malta) and Petr Bogusch (Central Europe and Sicily).

Total genomic DNA was extracted using the DNeasy Blood and Tissue Kit (QIAGEN). Haplotypes were obtained by sequencing the mitochondrial region of cytochrome oxidase II (COII) (Garney *et al.*, 1993; Franck *et al.*, 1998), because mitochondrial DNA evolves rapidly in animals and has uniparental (maternal) inheritance (Avice, 2009). Indeed, mitochondrial sequences have been widely used in phylogeographic studies of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Magnus & Szalansky, 2010; Magnus *et al.*, 2011; Szalanski *et al.*, 2016; Techer *et al.*, 2017) and *Xylocopa* Latreille, 1802 (Vargas *et al.*, 2015). This region was PCR-amplified with primers E2 (5' GGC AGA ATA AGT GCA TTG 3') and H2 (5' CAA TAT CAT TGA TGA CC 3'), following the protocols by Vargas *et al.* (2015). PCR products were sequenced by Macrogen Spain. Sequences were aligned, and manually adjusted, using MAFFT 7.450 (Katoh *et al.*, 2002) implemented in the Geneious 5.1.7 software (Drummond *et al.*, 2010).

Phylogenetic analysis

To test the monophyly of the three species, we performed a phylogenetic analysis based on mitochondrial (COII) sequences. Main clades of *R. sticticum*, *R. siculum* and *R. septemdentatum* were inferred based on Bayesian Inference (BI) and Maximum Likelihood (ML) analyses. Prior to the phylogenetic reconstruction, jModelTest 2.1.10 (Posada, 2008) was used to determine the simplest model of sequence evolution that best fits the sequence data. For the analyses, samples of *Anthidium florentinum* (Fabricius, 1775) (in the phylogeny of *R. sticticum*) and other *Rhodanthidium* species were used as outgroup samples (*R. septemdentatum* in the phylogeny of *R. siculum* and vice versa). The BI was implemented in MrBayes 3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), hosted in the CIPRES Science Gateway (Miller *et al.*, 2010), using GTR+G (*R. septemdentatum* and *R. sticticum*) and HKY85 (*R. siculum*) for two searches with 10 million generations each and a sample frequency of 1,000. Chain convergence was assessed with Tracer v1.7.1 (Rambaut *et al.*, 2018). The ML analyses were performed with the online software PhyML 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003; Guindon *et al.*, 2010) implemented in the ATGC bioinformatics platform (<http://www.atgc-montpellier.fr>); ML analysis rapid bootstrapping was conducted including 1,000 replicates. Trees were visualized in FigTree 1.4.4 (Rambaut, 2012).

Haplotype network analysis

To investigate phylogeographic patterns, haplotype network analyses were performed. We inferred connectivity between populations of *R. sticticum*, *R. siculum* and *R. septemdentatum* based on sharing of haplotypes and haplogroups. A statistical parsimony method (Templeton *et al.*, 1992) implemented in the PopART 1.7 software (Leigh & Bryant, 2015) was used to infer genealogical relationships among haplotypes and generate haplotype networks. The maximum number of differences resulting from single substitutions (indels were not considered) among haplotypes was calculated with 95% confidence limits.

Genetic diversity

We used DNAsp v.6 (Rozas *et al.*, 2017) to calculate the number of sequences, number of haplotypes, haplotype diversity (H) and nucleotide diversity (π) of the three species and their populations in the different geographic regions. DNAsp was also used to estimate F_{ST} (fixation index), a measure of genetic differentiation among groups of populations (Weir & Cockerham, 1984; Holsinger & Weir, 2009).

RESULTS

For *R. sticticum*, sequences were 294 bp long and a total of 57 haplotypes were obtained from 236 bees. For *R. septemdentatum*, sequences were 301 bp long and a total of 34 haplotypes were obtained from 44 bees. For *R. siculum*, sequences were 303 bp long and a total of 16 haplotypes were obtained from 25 bees.

Phylogenetic analysis

ML and BI analyses showed congruence among trees in terms of both topology and clade support. Two well supported haplogroups were obtained for *R. siculum* (**Fig. 1**) and three haplogroups were found for *R. septemdentatum* (**Fig. 2**), whereas for *R. sticticum* the topology did not show supported haplogroups and the populations were very poorly structured (**Fig. 3**). *Rhodanthidium siculum* haplogroups showed a biphyletic topology and were internally homogeneous and had higher differences among them than those presented

by *R. septemdentatum*. *Rhodanthidium septemdentatum* haplogroups, on the contrary, showed long branches and high internal heterogeneity. Samples of the African *R. sticticum ordonezi* were basal-most, followed by samples of *R. sticticum sticticum* primarily from Morocco.

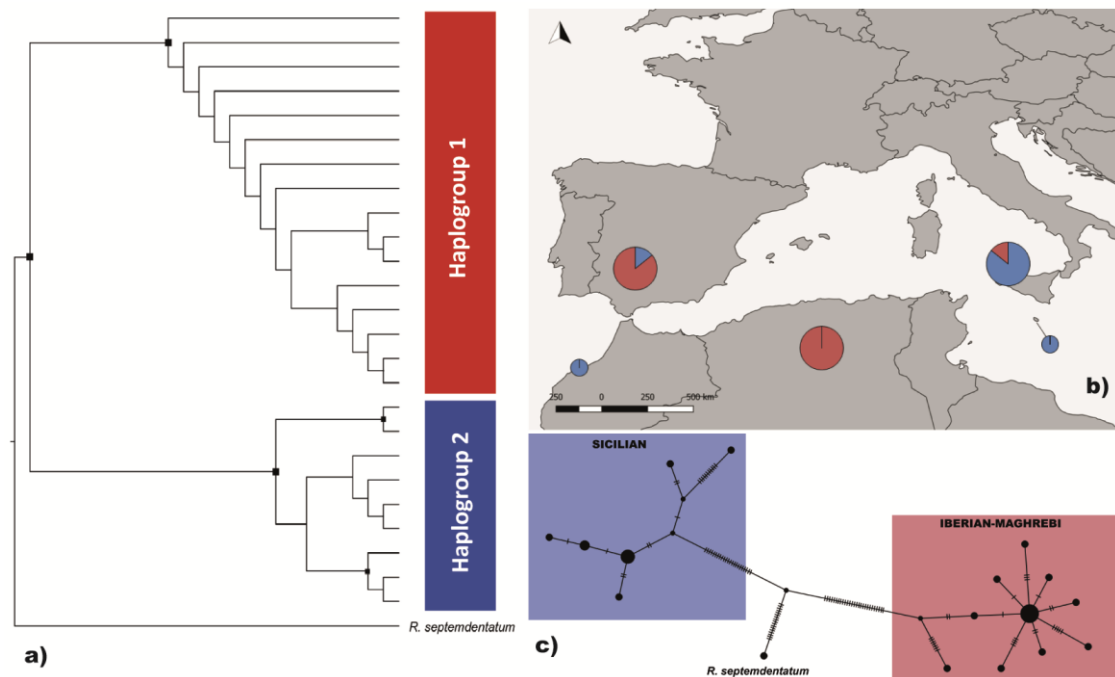


Figure 1. (a) ML phylogeny of *R. siculum* (haplogroup 1, predominantly Iberian-NW African, in red; haplogroup 2, predominantly Sicilian, in blue). Bootstrap support values (ML) and posterior probability (of the BI analysis) are shown when they are higher than 0.99/0.7 (BI/ML) as black squares. (b) Haplogroup distribution of populations of *R. siculum*. (c) Haplotype network of *R. siculum* populations. Each circle represents a different haplotype; their size is proportional to the number of sample sequences of each haplotype. Intermediate circles are hypothetical intermediated haplotypes. Branch length contains no information. Each perpendicular line indicates a mutational step.

Haplotype and haplogroup distributions

The populations of *R. siculum* were distributed in two *Rhodanthidium* haplogroups: predominantly Iberian-NW African (haplogroup 1, 16 samples) and Sicilian (haplogroups 2, nine samples) (**Fig. 1c**). Five haplotypes were distributed in NW Africa, four haplotypes in the Iberian Peninsula, four in Sicily and one in Malta (**Fig. 1b**). The two haplogroups of *R. siculum* were both distributed in distant geographic areas (Sicily, on one hand, and the Iberian Peninsula and NW Africa, on the other). A specimen of the Iberian-NW African haplogroup

(1) came from Sicily, a specimen of the Sicilian haplogroup (2) was part of the Iberian populations and another one was part of the African populations (**Fig. 1b**).

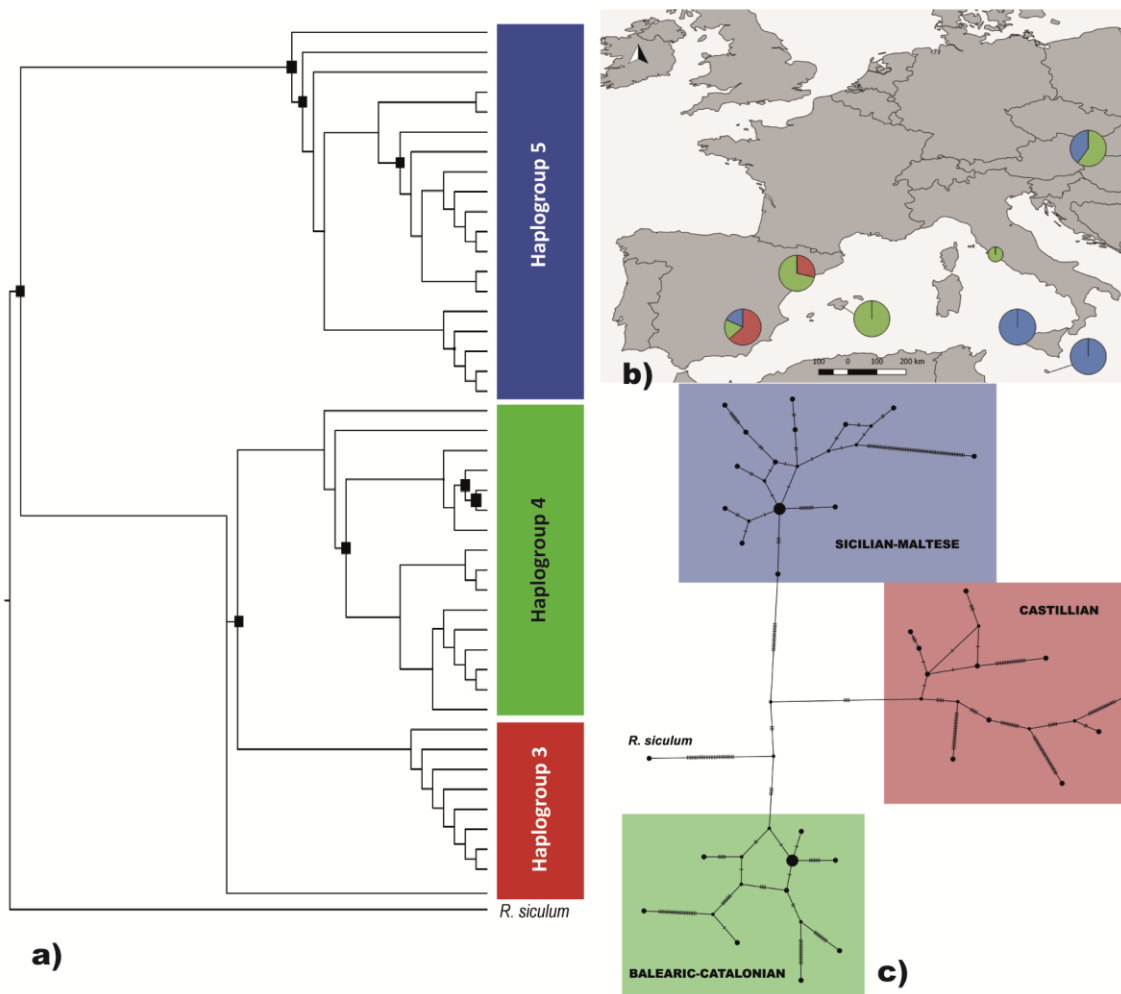


Figure 2. (a) ML phylogeny of *R. septemdentatum* (haplogroup 3, predominantly Central Iberian, in red; haplogroup 4, primarily Balearic-NE-Iberian, in green; haplogroup 5, primarily Sicilian-Maltese, in blue). Bootstrap support values (ML) and posterior probability (of the BI analysis) are shown when they are higher than 0.99/0.7 (BI/ML) as black squares. (b) Haplogroup distribution among populations of *R. septemdentatum*. (c) Haplotype network of *R. septemdentatum* populations. Each circle represents a different haplotype; their size is proportional to the number of sample sequences of each haplotype. Intermediate circles are hypothetical intermediated haplotypes. Branch length contains no information. Each perpendicular line indicates a mutational step.

Three *Rhodanthidium* haplogroups were obtained from *R. septemdentatum* samples, which were collected predominantly in Central Iberia (haplogroup 3, 11 samples), Balearic-NE Iberia (haplogroup 4, 14 samples) and Sicily-Malta (haplogroups 5, 19 samples) (**Fig. 2c**). Sixteen haplotypes were exclusive to the Iberian Peninsula (haplogroups 3, 4 and 5), eight from Sicily (haplogroup 5), five from Central Europe (haplogroups 4 and 5), one to Majorca (haplogroup 4) and one to Malta (haplogroup 5) (**Fig. 2b**). For *R. septemdentatum*, the

Iberian Peninsula shows the highest number of haplogroups (three) and haplotypes (19). The haplogroup 3 of *R. septemdentatum* was only found in the Iberian Peninsula, while the other two are distributed in Central Europe (**Fig. 2b**). Populations from Central Europe belonged to the Balearic and Sicilian haplogroups (haplogroups 4 and 5), but there is not a particular Central European haplogroup (**Fig. 2**).

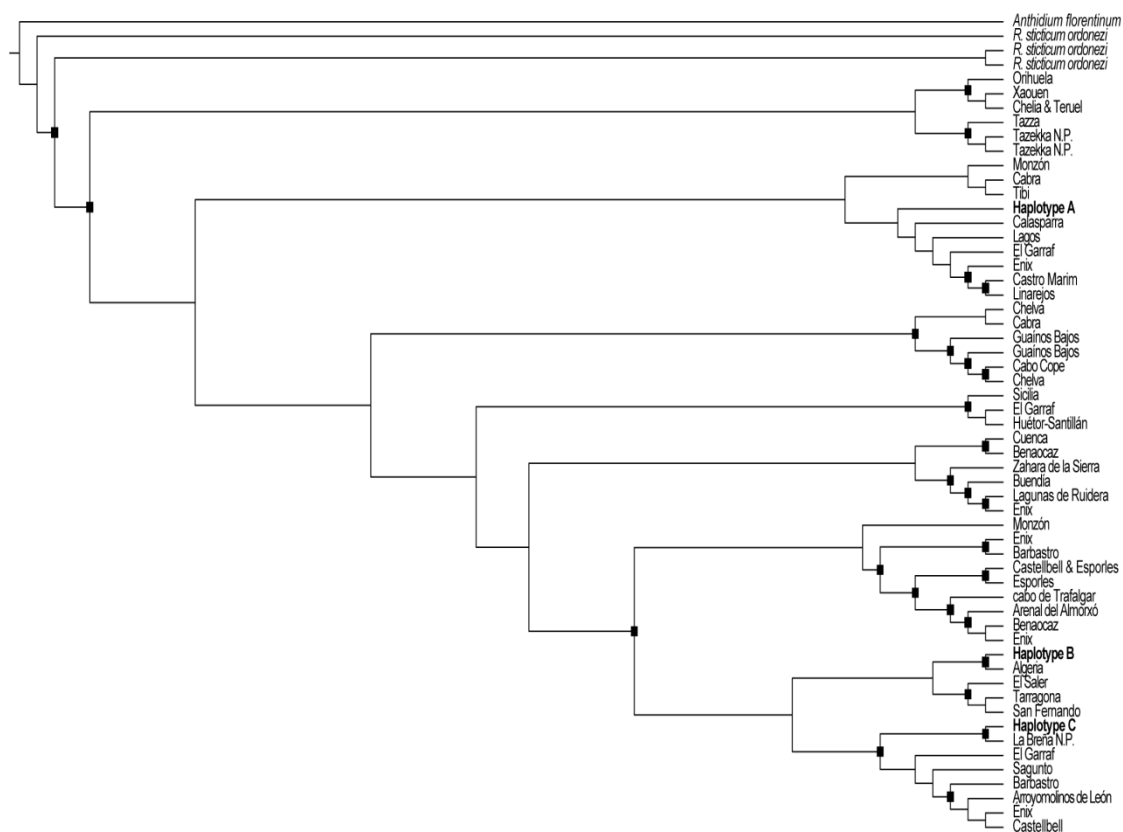


Figure 3. ML phylogeny of *R. sticticum*. Bootstrap support values (ML) and posterior probability (of the BI analysis) are shown when they are higher than 0.99/0.7 (BI/ML) as black squares.

Although *R. sticticum* does not show a clear haplotype structure, some results can be inferred: (i) haplotype connection to the outgroup indicates that the most ancestral haplotype is extinct or missing, but directly connected to *R. sticticum ordonezi* (**Fig. 3**); and (ii) the most frequent haplotype (A) has also the highest number (22) of haplotype connections, which indicates a secondary ancestral status (**Fig. 4**). This haplotype (A) was formed by 143 samples (60.59% of all samples), distributed in 38 Iberian (133 individuals), three Sicilian, one French and one Tunisian populations (**Fig. S2**). The next most common haplotype was haplotype C, formed by six Sicilian and seven Iberian individuals (13 samples, 5.5%), followed by haplotype B (ten samples, 4.24%) (**Fig. S3**). Haplotype B was

predominantly NW African (with nine samples from NW African individuals and one Iberian), with the rest of NW African haplotypes grouped around it (**Fig. 4**). Besides, there were 40 haplotypes exclusive to the Iberian Peninsula, eight to NW Africa (including three unique haplotypes of the subspecies *R. sticticum ordonezi*), two to Sicily and one to Majorca (**Fig. S4**). For *R. sticticum*, particular haplotypes were shared between Iberian and Balearic populations (three individuals from Majorca and three from NE Iberia shared the same haplotype), between Iberian and Sicilian populations (haplotype C with 13 samples and eight Sicilian individuals were part of haplotype A) and between Iberian and NW African populations (an Iberian individual had haplotype B, another one from Tunisia presented haplotype A and there was a particular haplotype shared by an Iberian and an NW African individual), but there was no merging of Sicilian and African populations (**Fig. S3**).

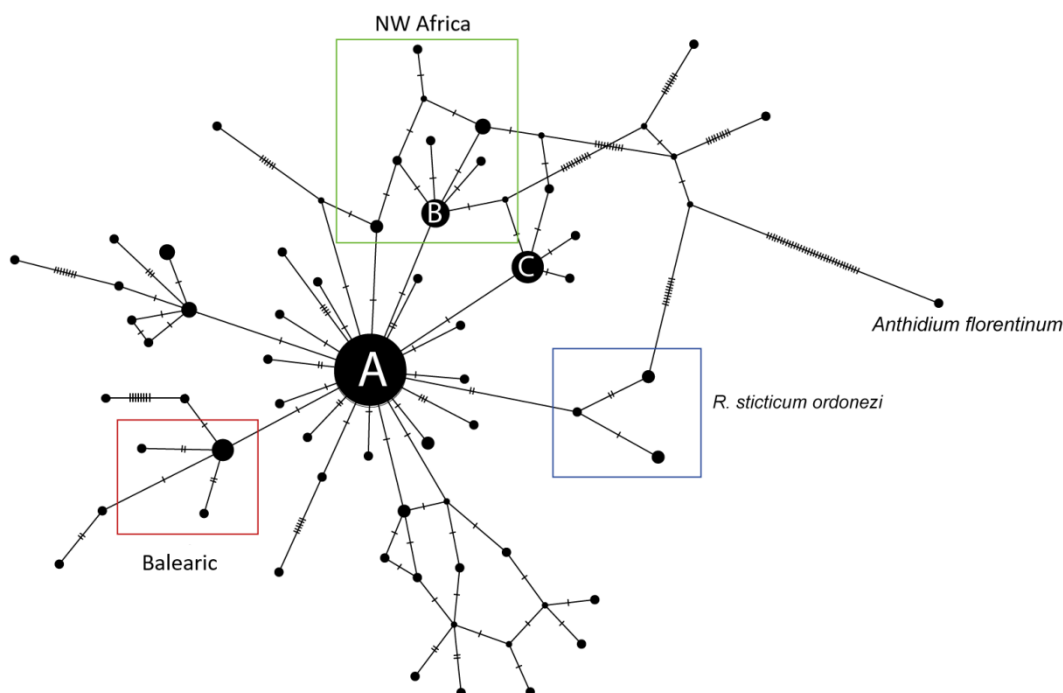


Figure 4. Haplotype network of *R. sticticum*. Each circle represents a different haplotype; their size is proportional to the number of samples belonging to each haplotype. Branch length contains no information. Each perpendicular line indicates a mutational step. Intermediate circles are hypothetical intermediated haplotypes.

Genetic diversity and geographic structure

Haplotype and nucleotide diversity (H and π) were high in *R. siculum* and *R. septemdentatum*, but much lower in *R. sticticum* (**Table 1**). Although *R. sticticum* showed a higher number of haplotypes (58), haplotype diversity was lower than that of *R. siculum* and *R. septemdentatum* because of sample size. Isolation, as shown by genetic differentiation values, was very high in *R. siculum* ($F_{ST} = 0.926$), followed by *R. septemdentatum* ($F_{ST} = 0.479$) and *R. sticticum* ($F_{ST} = 0.334$).

Table 1. Genetic diversity parameters (H , haplotype diversity; π , nucleotide diversity) and genetic distance (F_{ST}) of *R. sticticum*, *R. siculum* and *R. septemdentatum*.

Species	No. of samples	No. of haplotypes	H	π	F_{ST}
<i>R. sticticum</i>	236	58	0.627	0.013	0.334
<i>R. siculum</i>	25	17	0.899	0.104	0.926
<i>R. septemdentatum</i>	44	37	0.965	0.153	0.479

In *R. siculum*, our results showed similar genetic differentiation between the three geographic areas (Iberian Peninsula, NW Africa, Sicily), except for the low genetic differentiation value between NW Africa and Iberia (**Table 2**). However, these results have to be cautiously taken because of the low sample size. High haplotype diversity (H) for *R. septemdentatum* was observed in three geographic areas (Iberian Peninsula, Sicily and Central Europe) and low haplotype and nucleotide diversity (π) in the other two (Majorca and Malta) (**Table 2**). Nevertheless, the finding of one haplotype per individual prevented from fully relying on sample size for H and π . Genetic differentiation, as shown by F_{ST} values, is higher between islands than continent-continent or continent-island populations (**Table 2**). The high sample size of *R. sticticum* helps to describe some results: (i) the highest haplotype diversity in NW Africa ($H = 0.819$); (ii) the lowest haplotype diversity in the Iberian Peninsula ($H = 0.518$); (iii) the two sides of the Strait of Gibraltar (Iberia-NW Africa) showed low genetic differentiation ($F_{ST} = 0.276$), while any comparison with islands gave higher values (**Table 2**).

Table 2. Genetic diversity parameters (H, haplotype diversity; pi, nucleotide diversity) and genetic distance (F_{ST}) between populations of different geographical areas of *R. septemdentatum*, *R. sticticum* and *R. siculum*.

<i>R. septemdentatum</i>	No. of samples	No. of haplotypes	H	Pi	F_{ST}			
					Iberian	Majorca	Malta	Sicily
Central Europe	5	5	0.911	0.151	0.173	0.361	0.439	0.225
Iberian	18	18	0.973	0.159		0.337	0.537	0.312
Majorca	5	3	0.511	0.002			0.975	0.677
Malta	5	2	0.356	0.006				0.154
Sicily	11	11	0.952	0.105				
<i>R. sticticum</i>	N. of samples	N. of haplotypes	H	Pi	NW Africa	Majorca		Sicily
Iberian	192	47	0.518	0.012	0.276	0.286		0.098
NW Africa	23	11	0.819	0.011		0.495		0.364
Majorca	5	3	0.622	0.007				0.408
Sicily	16	4	0.621	0.010				
<i>R. siculum</i>	N. of samples	N. of haplotypes	H	Pi	NW Africa			Sicily
Iberian	7	5	0.791	0.058	-0.035			0.622
NW Africa	10	8	0.826	0.049				0.661
Sicily	8	6	0.899	0.065				

DISCUSSION

Our working hypothesis that the three species of *Rhodanthidium* have similar geographic patterns was not supported. Not only different, albeit overlapping, distributions for the three species indicate dissimilar evolutionary histories but also phylogeographical reconstructions suggest low geographical structure and high connectivity among distant areas.

Genetic diversity and geographic structure

Phylogenetic analyses showed that *R. siculum* and *R. septemdentatum* are structured in two and three well supported lineages, respectively. The haplotype networks of the two species support the occurrence of haplogroups with predominantly geographical patterns. Although we do not provide conclusive results, genetic diversity was found relatively high in the three species, with the highest values in *R. septemdentatum* ($H = 0.965$) and the lowest in *R. sticticum* ($H = 0.627$) (**Table 2**). In contrast, genetic differentiation showed high isolation values in *R. siculum* ($F_{ST} = 0.926$), and low values between areas of *R. septemdentatum* ($F_{ST} =$

0.479) and *R. sticticum* ($F_{ST} = 0.334$) (**Table 1**). Haplotype sharing and low isolation among areas indicate low geographic structure, which is compatible with high connectivity among areas in terms of both haplogroups and haplotypes.

Lack of a strong genetic structure and high gene flow is usually attributed to good flyers (Chapman *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2008; Exeler *et al.*, 2010; Černá *et al.*, 2013), generalists and pioneer species (Černá *et al.*, 2013). In the same way, the genetic similarity between the populations of *R. septemdentatum* from the Iberian Peninsula and Central Europe (and, in a lesser degree, between Sicily and Central Europe, **Table 2**), and between the populations of *R. sticticum* from Iberia and Sicily, also points to recurrent colonization in the course of the evolutionary history of the populations (Kasperek, 2019; Romero *et al.*, 2020a). Host plants and nest substrate specificity can cause reduce gene flow among populations (Danforth *et al.*, 2003; Černá *et al.*, 2013). However, that was not the case of any of the three *Rhodanthidium* bees, as they are polylectic (Erbar & Leins, 2017; Kasperek, 2019; Romero *et al.*, 2020b) and nest in empty snail shells that are found across limestone areas of Europe and NW Africa. Indeed, recent studies found that these bees do not depend on a particular snail species, provided that they have medium to large sizes (Erbar & Leins, 2017; Romero *et al.*, 2020a). Also, a high degree of genetic admixture might be expected for solitary bees, like *Rhodanthidium* species, which need to be more mobile in order to find mates (Paxton, 2005; Exeler *et al.*, 2010), being the males the ones showing more mobility (Penha *et al.*, 2014). For *R. siculum*, a more probable explanation for the high differentiation values (**Table 1**) would be the geographical isolation between populations, as it is the case of other bee species (Neumann & Seidelmann, 2006; Soro *et al.*, 2010). The existence of one or few predominant haplotypes, as haplotype A, B and C in *R. sticticum* (**Fig. 3, 4**), is generally connected with species able to disperse far and overcome terrestrial and marine barriers (Kim *et al.*, 2008; Černá *et al.*, 2013).

Besides, COI II sequences revealed a high number of exclusive haplotypes in *R. sticticum*, which reveals isolation in recent times (**Fig. S4**). However, haplotype A was found in more than half of the individuals (143) in three of the four geographical areas analyzed, which brings about low differentiation values. For instance, Sicilian populations were very similar to Iberian populations ($F_{ST} = 0.098$), due to the hegemony of haplotype A in both areas. The huge majority of haplotype A individuals were observed in the Iberian Peninsula (133) and

Sicily (8) (**Fig. S2**). An individual with haplotype A was also found in the south of France. Thus, the continuous distribution of the species from the south of Portugal to the south of Italy (Ornosa *et al.*, 2008; Kasperek & Lhomme, 2019) seemed to indicate interconnected populations all over the continental distribution of *R. sticticum*, as it is the case of some populations of *Osmia bicornis* (Linnaeus, 1758) (Neumann & Seidelmann, 2006) and *Bombus pascuorum* (Scopoli, 1763) (Widmer & Schmid-Hempel, 1999). Besides, as shown by the haplotype network and the phylogeny of *R. sticticum* (**Fig. 3, 4**), the most ancestral haplotypes, those of *R. sticticum ordonezi*, are found connected to the outgroup (*A. florentinum*). The narrow distribution of this subspecies to the south of the Atlas Mountains (Dusmet, 1915a; Kasperek & Lhomme, 2019) suggests that the Atlas Mountains harbour refugial areas and the ancestral lineage. A secondary ancestral haplotype (A) is widespread, indicating a successful distribution early since species formation (**Fig. S2**).

On the contrary, gene flow in *R. siculum* was low between separated geographical areas (Sicily on one side and the Iberian Peninsula and NW Africa, on the other) and the species populations had a strong genetic structure, probably due to its disjunct distribution in Southern Europe, although some populations share few individuals from the two haplogroups (Sicily, southern Iberia). However, gene flow between southern Iberia and NW Africa appears to be significant (**Table 2**), but low sample size prevents from describing strong results. Something similar occurred among populations of *R. septemdentatum*. Nevertheless, an interesting pattern of isolation was inferred for the Mediterranean islands of Majorca, Sicily and Malta (between Majorca and the other two island), where high genetic differentiation and monotypic haplogroups were found (**Table 2, Fig. 3**). However, although the distributions of *R. sticticum* and *R. siculum* were analyzed, the distribution of *R. septemdentatum* was just partly studied (western Mediterranean and Central Europe). Further studies should focus on geographical structure and lineages distribution throughout the rest of *R. septemdentatum* range to get a global image of the species.

Colonization of snail-nesting *Rhodanthidium* species

A general pattern can be described for the three species of *Rhodanthidium*: multiple connections between distant geographic areas of the continent and a consistent pattern of isolation for the Mediterranean islands. Thus, genetic differentiation, for the three species,

follows a clear pattern: the populations that are the least singular are those whose distributions are continuous (*R. septemdentatum* from the Iberian Peninsula to Central Europe and from Sicily to Central Europe, *R. sticticum* from the Iberian Peninsula to Sicily) and whose populations are separated by narrow straits (*R. siculum* and *R. sticticum* from both sides of the Strait of Gibraltar). Populations separated by wider extensions of sea, but in relatively close coasts, have also low or intermediate levels of genetic differentiation (*R. septemdentatum* from Malta and Sicily, *R. septemdentatum* and *R. sticticum* from Majorca and the Iberian Peninsula), whereas areas that are apart by hundreds or thousands of kilometers of sea, or with a disjunct distribution, show very high levels of genetic differentiation among populations, especially the Mediterranean islands (*R. siculum* from Sicily and from the Iberian Peninsula and NW Africa, populations of *R. septemdentatum* and *R. sticticum* from the different islands) (**Table 2**). Similar patterns have been described for islands colonization and isolation patterns, being the closest islands to the continent, the ones more easily colonized (Whittaker & Fernández-Palacios, 2006; Spengler *et al.*, 2011; Vargas *et al.*, 2015).

Biological causes are analyzed to interpret low isolation of *Rhodanthidium* populations. In the case of the three *Rhodanthidium* species, they have a strong flight capacity (Nachtigall, 1997a; Erbar & Leins, 2017; Romero *et al.*, 2020d), which has probably led to their wide and continuous distribution in continental Europe (*R. sticticum* and *R. septemdentatum*) and NW Africa (*R. siculum* and *R. sticticum*). Together with easy dispersability, establishment needs to take place for successful colonization. The extension of Mediterranean climate and the climatic preferences of the species (Romero *et al.*, 2020a) have facilitated the colonization of *R. septemdentatum* and *R. sticticum* all across the south of Europe. Even the hardiness of *R. septemdentatum* may account for its occurrence in Central Europe. Unlike *R. sticticum*, that occurs under typical Mediterranean conditions (Romero *et al.*, 2020a), *R. septemdentatum* tolerates lower temperatures. The samples from Central Europe belonged to haplogroups 4 and 5 (the predominantly NE Iberian-Balearic and Sicilian haplogroups) (**Fig. 2**), indicating the merging of populations from two southern areas (Lai & Pullin, 2004; Hofman *et al.*, 2007; Dinca *et al.*, 2011; Cox *et al.*, 2019). Besides, the populations of *R. septemdentatum* are still expanding in Central Europe (Bogusch *et al.*, 2020). *Rhodanthidium siculum*, in contrast, is linked to warmer and drier climates (Romero *et al.*, 2020a), and it has not been able to

expand from southern Iberia and Sicily to colonize northern European areas (Neumann & Seidelmann, 2006; Soro *et al.*, 2010).

In the Mediterranean, lineage connections are difficult to explain, as they imply long distance dispersal over sea barriers. Although many Mediterranean islands form part of a single haplogroup, some others have been recurrently colonized. There is evidence of recurrent colonization across the Strait of Gibraltar for *R. siculum* and *R. stictum*, which contrasts with absence of *R. septemdentatum* in Africa. Again, species colonization across the Strait of Gibraltar has particular patterns for each species, although animals with flight capacity and broad ecological requirements appear to have been more successful (Rodríguez-Sánchez *et al.*, 2008).

Numerous drivers have postulated for dispersal, such as strong winds that sweep the smallest and lightest species, vegetal rafts, landslides or human intervention (Glor *et al.*, 2005; Spengler *et al.*, 2011; de Sosa *et al.*, 2017; García-Olivares *et al.*, 2017). This accidental way of expansion across the sea has been described for a number of species, including bees (Roubik & Camargo, 2012; Groom *et al.*, 2013; Vargas *et al.*, 2015). The question remains as to whether bee establishment depends over the ecological requirements needed for a successful colonization.

One of the most interesting ecological aspects that may have contributed to the establishment of populations after long-distance distances is the use of Gastropod shells for nesting. *Rhodanthidium septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum* use empty snail shells for nesting and sheltering during the night or bad weather conditions (Romero *et al.*, 2020a, d). This behavioural pattern has helped the species to spread in areas with abundance of empty shells (Bogusch *et al.*, 2020). Snail shells offer a protection against different adversities, such as extreme heat, floods, predation and parasitism (Müller *et al.*, 2018). Considering this, on the event of torrential rains, very frequent in the Mediterranean area (Pastor *et al.*, 2001), soil nesters face more risk and would suffer a higher rate of mortality, while snail shell nesters would have a bigger chance of surviving. Furthermore, during flash floods caused by those heavy rains, Gastropod shells with *Rhodanthidium* nests, or even with sheltering individuals, would be dragged through torrents and ravines to the sea, along with rocks, mud and vegetation, and could end up on rafts, as it occurs with alive Gastropod

individuals (Smith & Djajasasmita, 1988; Dörge *et al.*, 1999; Ozgo *et al.*, 2016; Uit de Weerd *et al.*, 2016). These rafts would drift to other Mediterranean coasts, where the errant individuals of *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum* would find suitable conditions and, presumably, populations of their own species to merge with them and contribute to their genetic diversity. As nesting inside Gastropod shells is also relatively frequent in species of the genus *Osmia* Panzer, 1806 (Müller *et al.*, 2018), further studies on the geographic structure of the snail-nesting species of this genus could corroborate whether this behaviour works out well for the species in terms of long-distance dispersion by sea.

CONCLUSIONS

Although sample size should be increased in the future to describe more specific patterns, the populations sampled of *R. septemdentatum*, *R. siculum* and *R. sticticum* gave enough phylogeographic evidence for some conclusive results. The three *Rhodanthidium* species show high connectivity among distant geographic areas, both in terms of haplogroups and haplotypes. Mediterranean islands show a more limited connectivity. Biological aspects of the species (generalists, strong flyers) have facilitated their dispersion and across-the-sea colonization, together with the use of shells, which could have favoured overseas dispersion in vegetal rafts. We hypothesize that recurrent colonization of distant geographic areas has been favoured, too, by the Mediterranean climate and abundance of Gastropod shells for bee nesting in limestone areas of the Mediterranean basin.

SUPPLEMENTARY MATERIAL



Figure S1. Distribution of *Rhodanthidium* populations analyzed in this work. (a) *R. septemdentatum*. (b) *R. siculum*. (c) *R. sticticum*.



Figure S2. Distribution of haplotype A among populations (in red). In black, the rest of haplotypes in each population. Distribution of shared haplotypes among geographically separated areas (haplotype B in yellow, haplotype C in blue), (d) distribution of endemic haplotypes. In maps b, c and d, black indicates the rest of haplotypes in each population.

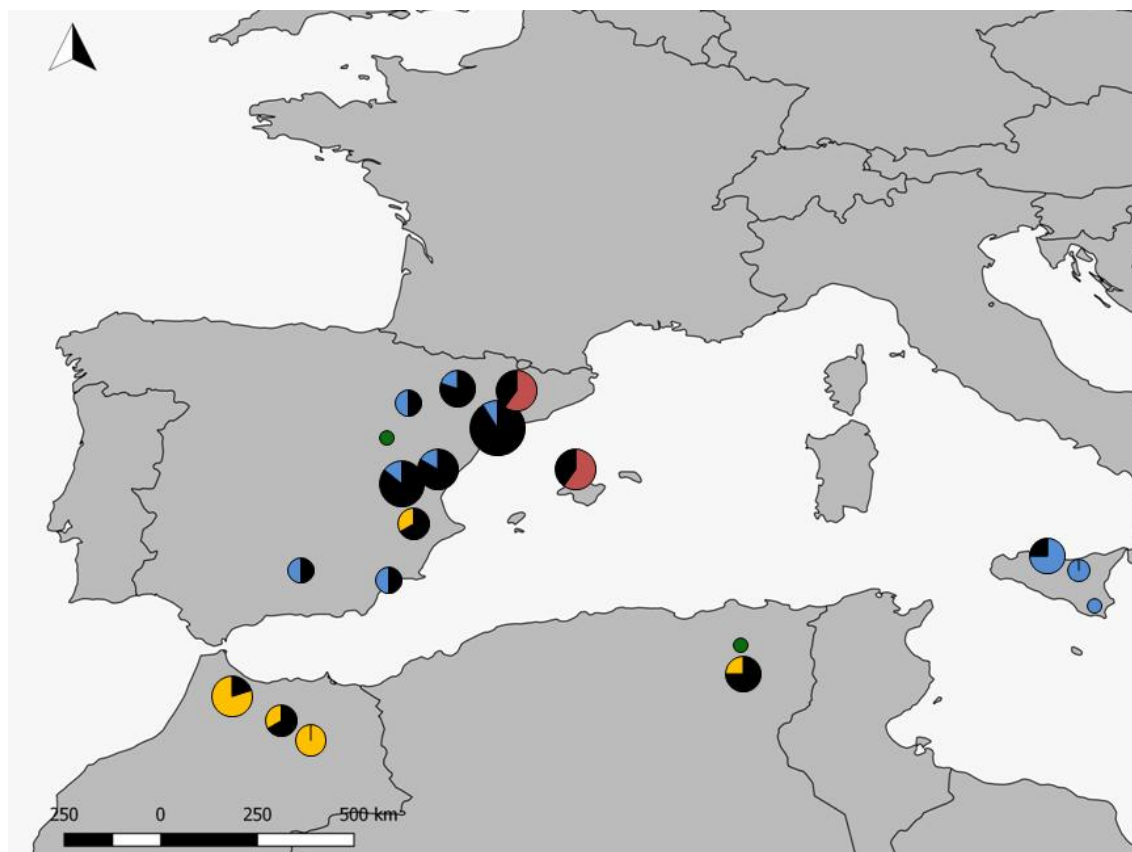


Figure S3. Distribution of other shared haplotypes among geographically separated areas (haplotype B in yellow, haplotype C in blue). In black, the rest of haplotypes in each population (d) distribution of endemic haplotypes. In maps b, c and d, black indicates the rest of haplotypes in each population.

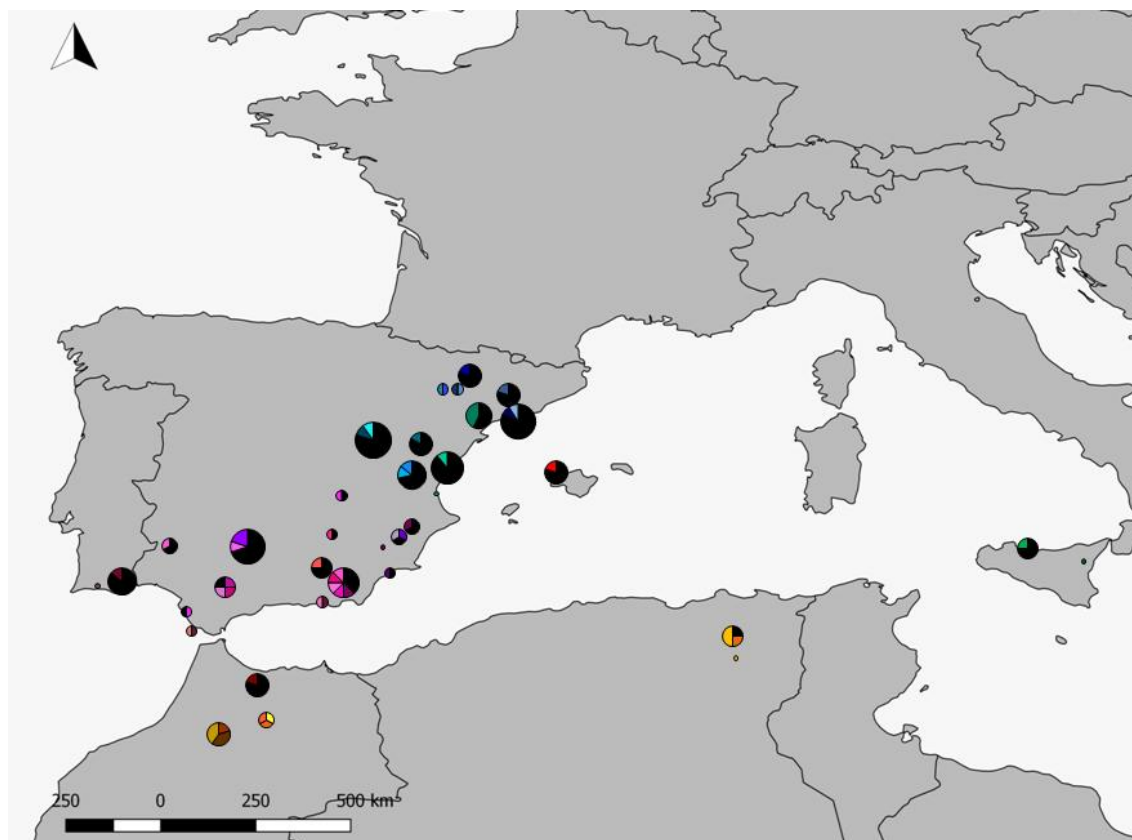
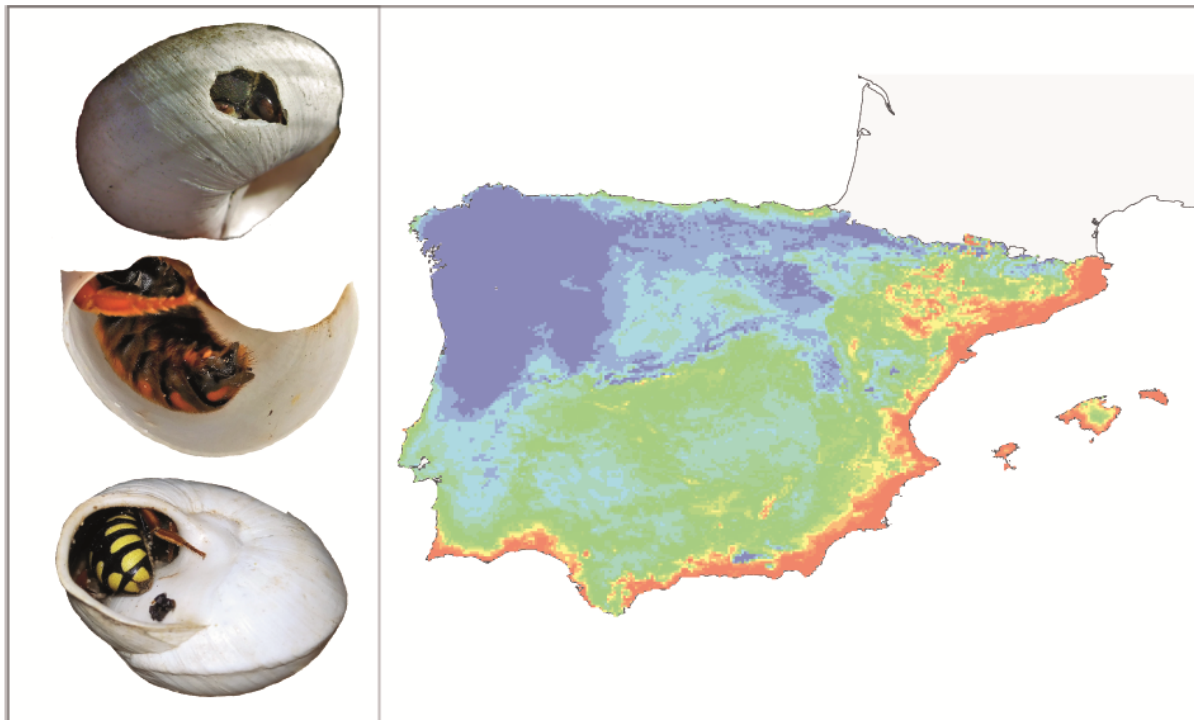


Figure S4. Distribution of of endemic haplotypes (in multiple colours). In black, the rest of haplotypes in each population (d) distribution of endemic haplotypes.

CAPÍTULO 3

¿Dónde y por qué? Abejas, conchas de Gasterópodos y clima: Distribución de *Rhodanthidium* Isensee, 1927 (Hymenoptera: Megachilidae) en la Península Ibérica.



Romero, D., Ornos, C. & Vargas, P., 2020. Where and why? Bees, snail shells and climate: Distribution of *Rhodanthidium* (Hymenoptera: Megachilidae) in the Iberian Peninsula. *Entomological Science*, DOI: /10.1111/ens.12420.

RESUMEN

Los patrones de distribución de especies han sido y son ampliamente estudiados mediante los modelos de distribución de especies (SDMs, en sus siglas en inglés), usando principalmente variables ambientales. Los modelos de distribución conjunta (JSDMs) permiten inferir si otros factores (interacciones bióticas, una historia evolutiva común u otras variables no contempladas en los análisis) pueden tener una influencia importante en la distribución de las especies.

En este trabajo, se han modelizado las áreas de distribución y se han identificado las áreas óptimas de tres especies de abejas solitarias, nidificantes en caracoles, del género *Rhodanthidium* de la Península Ibérica y las especies de Gasterópodos, cuyas conchas utilizan como nido. Para ello, se elaboraron SDMs, usando el software Maxent, basado en puntos de presencia y variables climáticas, y se analizaron, asimismo, JSDMs para las especies de *Rhodanthidium* estudiadas, y los caracoles usados por ellas, para inferir si la presencia conjunta entre unas y otras puede deberse al uso de conchas por parte de las especies de abejas. Los resultados muestran que las tres especies de *Rhodanthidium*: (1) usan, al menos, cinco especies distintas de caracoles terrestres mediterráneos; (2) usan conchas vacías no solo para hacer sus nidos, sino también para refugiarse durante la noche y cuando las condiciones climáticas son adversas; (3) encuentran condiciones óptimas en el este y sudeste de la Península Ibérica, principalmente en zonas calizas; (4) tienen sus zonas más idóneas en aquellos lugares donde se dan condiciones de clima mediterráneo para las variables analizadas. Por otro lado, hay presencia conjunta positiva entre *Rhodanthidium* y las especies de Gasterópodos, especialmente *Sphincterochila candidissima* y, por último, el componente ambiental de la distribución conjunta es menor que el componente residual, lo que indica que (i) el uso de recursos bióticos (entre *Rhodanthidium* y las especies de Gasterópodos), (ii) una historia evolutiva compartida (entre *R. septemdentatum* y *R. sticticum*) o (iii) las variables no analizadas son, en gran parte, responsables de la presencia simultánea entre *Rhodanthidium* y las especies de caracol en cuyas conchas anida.

ABSTRACT

Species distribution patterns are widely studied through species distribution models (SDMs), focusing mostly on climatic variables. Joint species distribution models (JSDMs) allow inferring if other factors (biotic interactions, shared phylogenetic history or other unmeasured variables) can also have an influence on species distribution. We identified current distributional areas and optimal suitability areas of three species of the solitary snail-shell bee *Rhodanthidium* (Hymenoptera: Megachilidae), and their host Gastropod species in the Iberian Peninsula. We undertook SDMs using Maxent software, based on presence points and climatic variables. We also undertook JSDMs for the bees and the snails to infer if co-occurrence could be a result of biotic interactions. We found that the three bee species: (1) use at least five different species of Mediterranean snails; (2) use empty shells not only for nesting but also for sheltering when there is adverse weather and during the night; (3) have their most suitable areas in the eastern and southern Iberian Peninsula, mostly on limestone areas; and (4) have their optimal range under Mediterranean climatic values for the studied variables. There is positive co-occurrence of *Rhodanthidium* with the Gastropod species, especially with the snail *Sphincterochila candidissima*. The contribution of the environmental component to the co-occurrence is less than that of the residual component in those cases, suggesting that: (i) the use of biotic resources (between *Rhodanthidium* and the Gastropod species); (ii) shared phylogenetic history (between *R. septemdentatum* and *R. sticticum*); or (iii) unmeasured variables are largely responsible for co-occurrence.

INTRODUCTION

Species distribution models (SDMs) are used to build models to predict the potential distribution of species (Guisan & Thuiller, 2005; Elith & Leathwick, 2009). The use of SDMs has allowed researchers to find new populations, infer past and future distributions and identify patterns that account for the distribution of animal and plant species (Koch, 2011; Fernández-Mazuecos & Vargas, 2013). Species distribution models offer a description of potential distributions based on the ecological niche concept (Hutchinson, 1957), which combines the use of primarily presence records, abiotic variables and species environmental requirements (Beaumont *et al.*, 2005; Phillips *et al.*, 2006; Giannini *et al.*, 2013a, b, c).

However, among the variety of techniques and algorithms developed to perform SDMs (Hirzel *et al.*, 2002; Sangermano & Eastman, 2007; Elith *et al.*, 2011), very few take into account species co-occurrence and the potential interactions between them. Despite the proven importance of some interactions in the range of certain species (Wisz *et al.*, 2013; Anderson, 2017), biotic interactions have been often considered relevant only at a local scale, as they happen between individuals (Pearson *et al.*, 2006; Soberón & Nakamura, 2009). Mutualistic relationships like plant-pollinator interactions (Vargas *et al.*, 2017), Attinae ant-fungus (Mueller *et al.*, 2001), seed dispersion (Nogales *et al.*, 2003) and parasite-host relationships (Watson, 2009) are some examples. The recent development of joint species distribution models (JSDMs) allows researchers to gain insights into the relative roles of biotic and abiotic constraints on species co-occurrence patterns (Pollock *et al.*, 2014; Ovaskainen *et al.*, 2016; Tikhonov *et al.*, 2017). These models decompose species co-occurrence patterns into two components describing (i) shared environmental responses and (ii) residual co-occurrence. The residual components show other causes that could explain the co-occurrence, besides occupying a common abiotic niche, biotic interactions, shared phylogenetic history and other environmental variables not included in the model (Pollock *et al.*, 2014; Thorson *et al.*, 2016).

In the 15 last years, the study of bees has experienced a boost due to the threats they face and the critical situation of populations all over the world (Biesmeijer *et al.*, 2006; Otterstatter & Thomson, 2008; Johnson *et al.*, 2009; Jacobson *et al.*, 2018; Hofmann *et al.*, 2019). Several studies have carried out SDMs on bees incorporating biotic variables with

host plants: 36 species of *Centris* Fabricius (Giannini *et al.*, 2013b, c); *Peponapis fervens* (Smith, 1879) (Giannini *et al.*, 2010); six species of *Colletes* Latreille, 1802 (Roberts *et al.*, 2011); four species of *Xylocopa* Latreille, 1802 (Giannini *et al.*, 2013a); *Lithurgus huberi* Ducke, 1907 (Silva *et al.*, 2014); three species of *Melitta* Kirby, 1802 (Dellicour *et al.*, 2015b); and *Exoneurella tridentata* (Houston, 1976) (Silva *et al.*, 2018). Other SDMs of bees have focused only on abiotic variables for orchid bees (Hinojosa-Díaz *et al.*, 2009) and bumblebees (Penado *et al.*, 2016).

Several species of the Palearctic genus *Rhodanthidium* Isensee, 1927 (Megachilidae) nest inside empty snail shells (hereafter, “snail-shell bees”; **Fig. 1**). Five species of this genus are found in the Iberian Peninsula (Ornosa *et al.*, 2008) and four of them use snail shells for nesting: *Rhodanthidium sticticum* (Fabricius, 1787), *R. septemdentatum* (Latreille, 1809), *R. infuscatum* (Erichson, 1835) and *R. siculum* (Spinola, 1838). *Rhodanthidium sticticum*, the most abundant and best known, is not only important for plant reproduction and survival (Torres *et al.*, 2002), but also for ecological interactions with numerous species of Antirrhineae (*Antirrhinum* Linnaeus and *Linaria* Miller), which appear to be related to the evolution of flower morphology (Vargas *et al.*, 2010; Blanco-Pastor *et al.*, 2015; Guzmán *et al.*, 2015; Vargas *et al.*, 2017).

Rhodanthidium sticticum is a solitary bee distributed across the western Mediterranean (Dusmet, 1908; Ornosa *et al.*, 2008). Little is known about the species distribution (Ornosa *et al.*, 2008), biology (including nesting and territorial behavior) (Torres *et al.*, 2001) and pollination ecology (Torné-Noguera *et al.*, 2014), although it appears to be an important pollinator of threatened and endemic species (Escudero *et al.*, 2003; Vargas *et al.*, 2013). Low pollen specialization has been recorded for *R. sticticum*, and thus it is considered to be a polylectic or generalist bee (species collecting pollen from many unrelated plant families) (Bosch *et al.*, 1993; Torné-Noguera *et al.*, 2014). The same behaviours and similar patterns observed in *R. sticticum* have been described for two more species in the genus, *R. septemdentatum* and *R. siculum*, also distributed across the Mediterranean (Ornosa *et al.*, 2008). However, these species have been less studied and are less known, especially *R. siculum*, which is listed by the IUCN as “data deficient” (Ornosa & Ortiz-Sánchez, 2014).

Our hypothesis is that the current distribution of *Rhodanthidium* in the Iberian Peninsula depends on abiotic factors (temperature and precipitation) reflecting Mediterranean conditions together with the distribution of biotic resources such as Gastropod shells for nesting. In this study, we: (i) identify the snail species used by *Rhodanthidium* and their usage of the shells in the Iberian Peninsula; (ii) model potential distributional areas of *Rhodanthidium* in the Iberian Peninsula, and the main variables responsible for current distribution; (iii) examine co-occurrence patterns between bees and Gastropod species; and (iv) analyze the environmental and residual components responsible for co-occurrence patterns.

MATERIAL AND METHODS

As an overview of the methodology, we: (i) performed field surveys and bred *Rhodanthidium* in captivity; (ii) used SDMs and geographic information systems (GIS) analysis; (iii) obtained Schoener's Index to examine co-occurrence patterns; and (iv) undertook JSDMs to analyze environmental and residual components of co-occurrence.

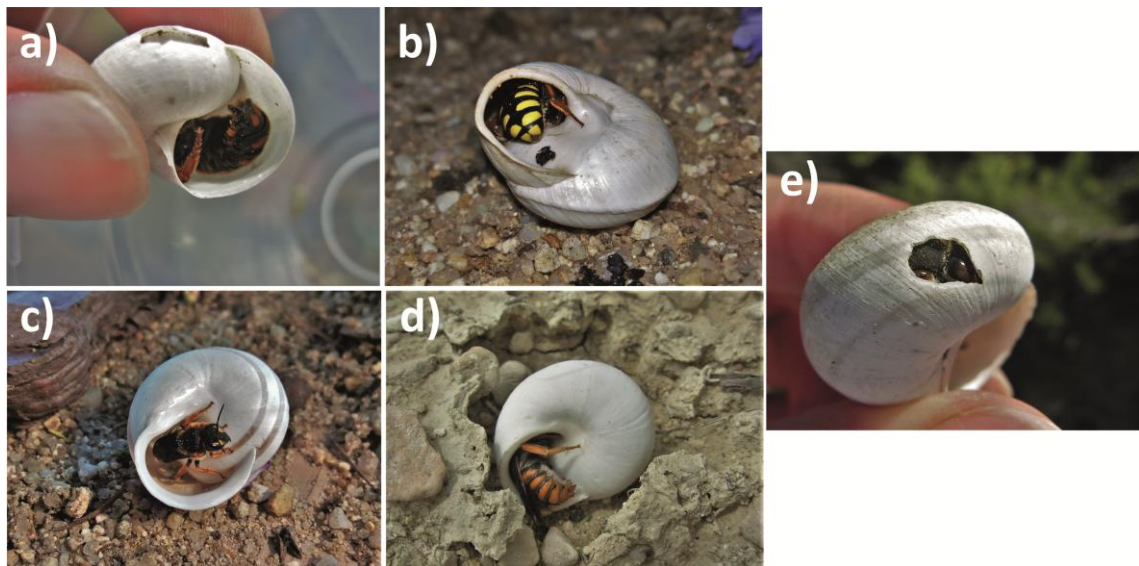


Figure 1. *Rhodanthidium* individuals in different snail shells used for nesting and sheltering. (a) Male of *R. siculum* in *Otala* sp. (b) Female of *R. septemdentatum* in *Sphincterochila candidissima*. (c) *R. septemdentatum* in *Eobania vermiculata*. (d) Male of *R. sticticum* in *S. candidissima*. (e) *R. sticticum* in *Otala* sp.

Field surveys

During the springs of 2016, 2017 and 2018 (from March to June), we undertook field surveys, covering the distributional area of the three *Rhodanthidium* species in the Iberian Peninsula (**Fig. S1**), in order to collect samples, verify the presence in previously known locations and identify new populations in suitable areas. It has been stated that these bees are on the wing only during sunny days (Torres *et al.*, 2001). Although the three *Rhodanthidium* species are easily identifiable (Kasperek, 2019), we collected at least one individual per species from each location as a voucher (deposited in the Entomological Collection of the Complutense University of Madrid, UCME). The sampling effort in each locality lasted between 1 and 3 h. The sampling method was focal, searching for *Rhodanthidium* bees on flowers and in snail shells.

As we had also noticed *R. sticticum* entering empty shells under adverse weather (**Fig. 1**), we undertook the field surveys under different weather conditions (sunny to cloudy, rainy and windy days) and at different times of the day (including late afternoon, when the sun is almost set). During these surveys, land Gastropod shells present in the area were visually examined. Only shells with bees inside were collected, brought to the laboratory and identified (Ruiz *et al.*, 2006). All *Rhodanthidium* individuals found inside empty snail shells were individually collected, identified and deposited in the UCME.

Rhodanthidium breeding in captivity

As we found *R. sticticum* hiding in shells in the late afternoon, we brought a male and a female each of *R. sticticum* (Nuévalos, Zaragoza, Spain) and *R. septemdentatum* (Monzón, Huesca, Spain) to the laboratory in order to observe the use of shells during the night. Each pair was kept for a month in a brood chamber, oriented to the south, with direct sun. Empty snail shells (*Otala*, *Eobania*) were placed inside the chamber and fresh wild flowers were provided every day.

Species distribution data

This study covers the Iberian Peninsula and the Balearic Islands, where there are reliable occurrence records of *R. sticticum* (246), *R. septemdentatum* (157) and *R. siculum* (24) (see

Table S1 and **Fig. S2**). Data on the presence of *R. sticticum*, *R. septemdentatum* and *R. siculum* were obtained from our own field surveys, entomological collections (National Museum of Natural Sciences, MNCN-CSIC; Entomology Collection of the Complutense University of Madrid, UCME; Royal Botanical Garden of Madrid and Javier Ortiz's private collection) and bibliographical references (Dusmet, 1908; Ortiz-Sánchez, 1990; Bosch *et al.*, 1993; Baldock, 2014). Global Biodiversity Information Facility (GBIF) data were not used because they are scarce for the three *Rhodanthidium* species in the Iberian Peninsula and they included the localities already sampled or available in collections and bibliography. All records without geographic coordinates were georeferenced using Google Earth (<http://earth.google.com/web>), inferring the species locations by the name of the sampling localities included in the specimens data (**Table S1**).

Data on the distribution of snail species used by *Rhodanthidium* were taken from GBIF Data Portal (GBIF.org, 2018a, b, c, d, e). Occurrence data for these snail species in GBIF datasets are abundant and cover all the Iberian distribution, including the sampled localities in the current study (see maps of localities in **Fig. S3**).

Model variables

We used 19 bioclimatic variables of temperature and precipitation with 2.5' resolution from WorldClim Global Climate Data version 2.0 (<http://www.worldclim.org/version2>) (Fick & Hijmans, 2017): annual mean temperature (bio1), annual mean diurnal range (bio2; mean of the monthly temperature ranges), isothermality (bio3; quantifies how large the day-to-night temperatures oscillate relative to the annual oscillations), temperature seasonality (bio4; temperature variation over a year), maximum temperature of the warmest month (bio5), minimum temperature of the coldest month (bio6; MTCM), annual temperature range (bio7; temperature variation between the annual maximum and minimum), mean temperature of the wettest quarter (bio8; MTWQ), mean temperature of the driest quarter (bio9), mean temperature of the warmest quarter (bio10), mean temperature of the coldest quarter (bio11; MTCQ), annual precipitation (bio12), precipitation of the wettest month (bio13), precipitation of the driest month (bio14; PDM), precipitation seasonality (bio15; PS, precipitation variation over a year), precipitation of the wettest quarter (bio16),

precipitation of the driest quarter (bio17; PDQ), precipitation of the warmest quarter (bio18) and precipitation of the coldest quarter (bio19; PCQ) (O'Donnell & Ignizio, 2012).

Two sets of SDMs were undertaken for *R. sticticum*, *R. septemdentatum* and *R. siculum*: one with only climatic variables and the other including them with snail distribution suitability maps as a variable (the presence points of the five Gastropod species were merged and the Maxent analysis was carried out to obtain a suitability map for the presence of snails used by *Rhodanthidium*).

Species distribution modelling and GIS analysis

The Maxent software (version 3.3.3.k; Phillips *et al.*, 2006) was used to carry out ecological niche modeling due to its high predictive accuracy on cross-validation tests, robustness of response, good performance when using correlated independent variables through regularization parameters and its highly reliable predictions with few occurrence data (as is the case with *R. siculum*) (Elith *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2006; Pearson *et al.*, 2007; Wisz *et al.*, 2008; Duque-Lazo *et al.*, 2016). Maxent is a modeling program based on the maximum entropy algorithm that uses presence-background data to infer the potential distribution for the given occurrence data under certain environmental conditions (Phillips & Dudík, 2008; Elith *et al.*, 2011), with the best distribution the one that is closest to uniform. The R package ENMEval was used to find out the best feature class (FC) and regularization multiplier (RM) to generate the SDMs in Maxent (Muscarella *et al.*, 2014). These parameters are important because they affect overfitting, predictions and model complexity (Phillips *et al.*, 2006, 2017; Phillips & Dudík, 2008; Elith *et al.*, 2011). To estimate the fitting of the prediction to the distribution, ENMEval also calculates a series of evaluation metrics, of which the area under the curve (AUC) value of the receiver operating characteristic curve reflects model goodness and complexity. The best model is the one with the highest AUC, oscillating between 0 and 1 (Muscarella *et al.*, 2014) and the corresponding RM and FC were selected for each species (**Table S2**).

For each bee and snail species, we ran 10 bootstrap replicate analyses. As a result, a suitability map (potential distribution) including each pixel of the studied area was obtained based on its environmental features and the ecological requirements of the species from 0 (least suitable) to 1 (most suitable) (Phillips *et al.*, 2006; Hinojosa-Díaz *et al.*, 2009). A

suitability map for all snail species together was also obtained, as the output of a single model with the presence data of all the Gastropod species. The Maxent output format provided here is cloglog, which gives an estimate between 0 and 1 of the probability of presence (Phillips *et al.*, 2006; Phillips & Dudik, 2008; Phillips, 2017). Variable contributions and response curves were also obtained from the Maxent analysis. A threshold of 0.7 was established to identify the optimal suitability values for the main variables (Phillips, 2017), obtained from the response curves. QGIS 2.18.16 (QGIS Development Team, 2009) was used to undertake the analysis and map edition. The coordinates system for all maps is WGS 84, EPSG:4326.

Co-occurrence and joint species distribution models (JSDM)

To examine species co-occurrence patterns, we used Schoener's co-occurrence index (Schoener, 1968; Hardy, 2008; Warren *et al.*, 2008; Pollock *et al.*, 2014), one of the most used indices to analyze species co-occurrence but without disentangling the different contributions of shared environmental responses and species interactions. Schoener's Index shows the proportion of niche overlap or suitability similarity for a pair of species, from 0 (no overlap at all) to 1 (identical models). To perform it we used the 'picante' package (version 1.7) in R (Kembel *et al.*, 2010) and the same presence points as for SDM.

To model species co-occurrence and infer the different contributions, we used an R code for JSDMs developed by Pollock *et al.* (2014). This model decomposes species co-occurrence into components describing shared environmental responses and residual co-occurrence, using a multivariate probit regression model (Chib & Greenberg, 1998). This model is a generalization of the probit model and is used to jointly estimate correlated binary results, similarly to logistic regression. These components can be positive or negative. When two species have high positive correlations it means that the species co-occur because of their shared environmental requirements (environmental component) or some other reason (residual component); the latter can give us an insight on species interactions (Pollock *et al.*, 2014).

To undertake JSDMs, we selected eight ecologically meaningful variables for the bees: minimum temperature of the coldest month (bio06, MTCM), mean temperature of the wettest quarter (bio08, MTWQ), mean temperature of the coldest quarter (bio11, MTCQ),

precipitation of the driest month (bio14, PDM), precipitation seasonality (bio15, PS), precipitation of the driest quarter (bio17, PDQ), precipitation of the warmest quarter (bio18, PWQ), precipitation of the coldest quarter (bio19, PCQ) (O'Donnell & Ignizio, 2012). We used the same presence points as for SDMs.

RESULTS

Use of Gastropods by *Rhodanthidium*

Five terrestrial Gastropod species of two families used as shelter and nests by *R. sticticum*, *R. septemdentatum* and *R. siculum* were identified in our field surveys, mostly used by *R. sticticum* (**Table S3**). In particular, three species of snails (*Otala lactea* (Müller, 1774) (Helicidae), *Otala punctata* (Müller, 1774) (Helicidae) and *Sphincterochila candidissima* (Draparnaud, 1801) (Sphincterochilidae)) were predominantly used by males and females of the snail-shell bees (29 occupied shells of *O. lactea*, 23 shells of *S. candidissima* and 17 shells of *O. punctata*, 89.7% of the total). We found five shells of *Eobania vermiculata* (Müller, 1774) (Helicidae) and three shells of *Theba pisana* (Müller, 1774) (Helicidae), used as shelter (10.3% of the total). Three nests of *R. sticticum* were found, one in a shell of *O. lactea* and two in shells of *O. punctata*.

We brought one pair of *R. sticticum* and one pair of *R. septemdentatum* to the laboratory and observed that the shells were used during the night, predominantly by females, while males slept below the flowers.

Rhodanthidium and Gastropod species distribution models

Species distribution models for *R. sticticum* (**Fig. 2a**) predicted the Iberian coast from the south of Portugal to the Gulf of Roses (at the Spanish-French border) as highly suitable areas (in warm colours). The Balearic Islands and inland regions of Iberia (Andalusia, Levant area, Aragón, Catalonia and Castilla-La Mancha) also showed suitable areas where the species is present (green colours). *Rhodanthidium septemdentatum* (**Fig. 2c**) showed a very similar pattern. Suitable areas for *R. siculum* (**Fig. 2e**) were distributed from the middle of the

Peninsula to the south, narrower on the Mediterranean coast and with wider areas to the east of Andalusia and the south of Portugal.

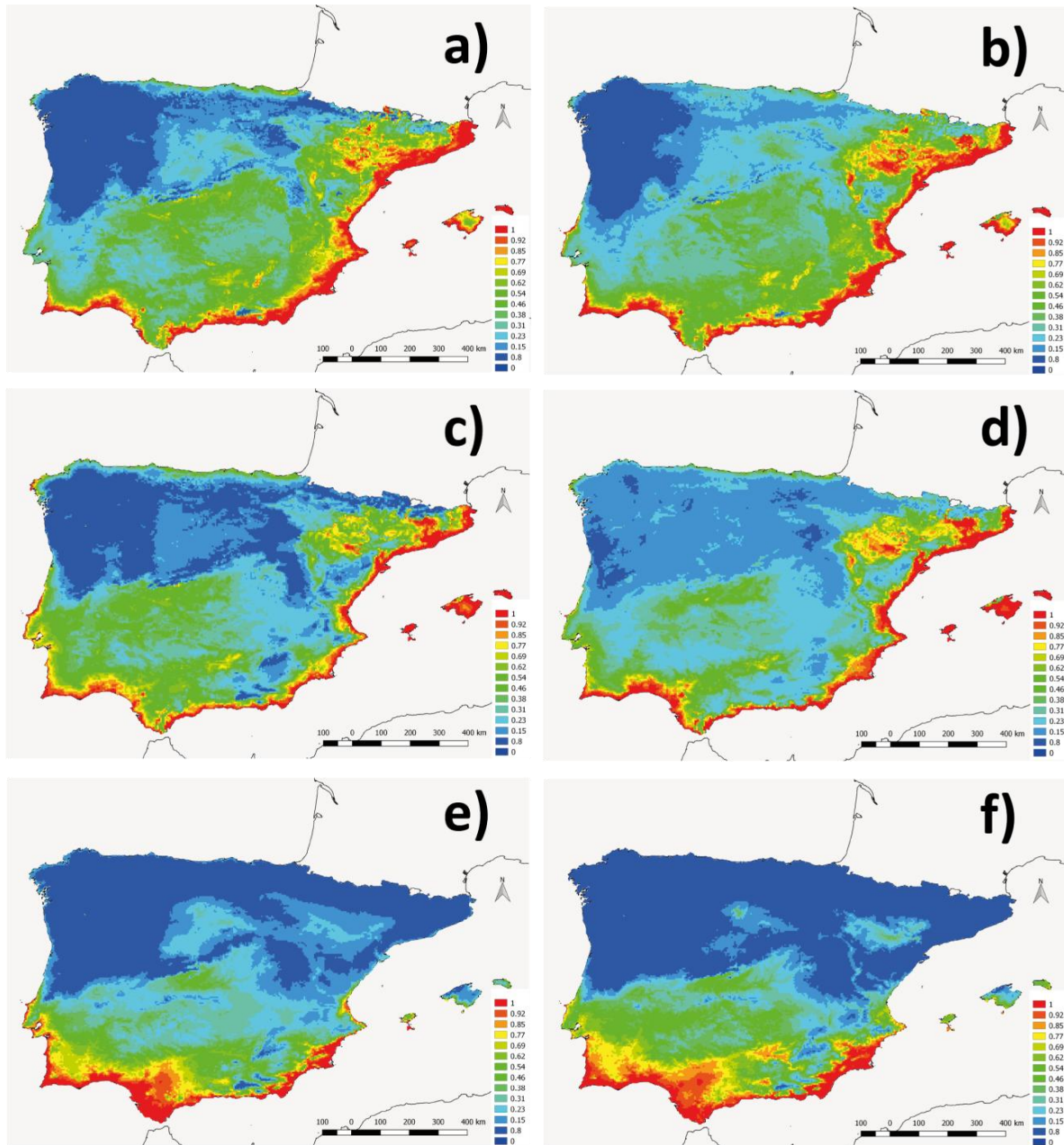


Figure 2. Species distribution models (cloglog output). Red and warm colors indicate high probability of suitable conditions, green indicates conditions typical of them where the species is found and blue indicates low predicted probability of suitable conditions. (a, b) *Rhodanthidium sticticum*. (c, d) *R. septemdentatum*. (e, f) *R. siculum*. In models (a), (c) and (e) only climatic variables were used. In models (b), (d) and (f), a Gastropod suitability map was also a variable used in the species distribution model analysis.

Considering the distribution of the Gastropod species as a variable for the models, similar distributional ranges were predicted, but *R. sticticum* and *R. siculum* distribution areas were

slightly bigger (**Fig. 2b, 2f**), whereas the *R. septemdentatum* range was slightly narrower (**Fig. 2d**). The overlapping of highly suitable areas between the bees and the Gastropods showed the same patterns: *R. sticticum* and *R. septemdentatum* optimal areas were shared by the Gastropod species in most of their ranges in the Iberian Peninsula (**Fig. 3a-3d, Fig. S6**). For *R. siculum*, highly suitable areas were shared only in the south, coastal areas (**Fig. 3e, 3f**).

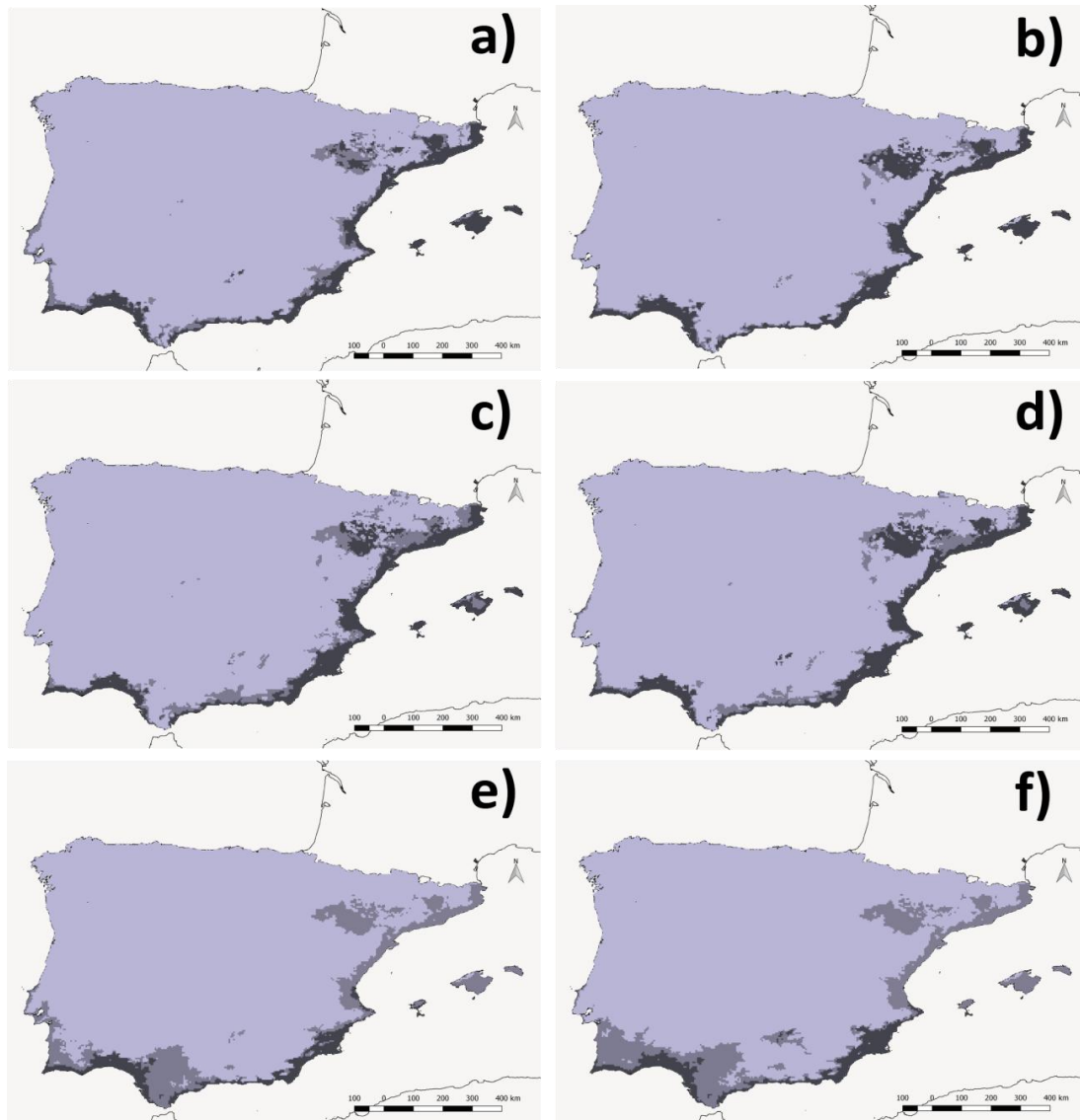


Figure 3. In dark grey, spatial overlap of highly suitable areas (>0.7) of each *Rhodanthidium* species and the output of a single model obtained with the presence data of all the Gastropod species. (a, b) *R. sticticum*. (c, d) *R. septemdentatum*. (e, f) *R. siculum*. In models (a), (c) and (e) only climatic variables were used for the bees. In models (b), (d) and (f), a Gastropod suitability map was also a variable used in the species distribution model analysis of the bees.

A similar distribution pattern for *R. sticticum* and *R. septemdentatum* was found when considering the Gastropod species (**Fig. S4**), but narrower on the Atlantic coast. Independent model distribution maps for the five snail species can be seen in **Fig. S5**.

Mean temperature of the wettest quarter (MTWQ) was the most important variable, followed by mean temperature of the coldest quarter (MTCQ) and precipitation of the coldest quarter (PCQ). Together with minimum temperature of the coldest month (MTCM), these variables contributed the most to the model (**Table 1**).

When including the Gastropods' suitability map as a variable for the SDMs, the snail probability of presence (SPP) became the most important variable for the three *Rhodanthidium* species, but with notable differences: its contribution for *R. septemdentatum* (90.6%) and *R. sticticum* (81.3%) was much higher than that for *R. siculum* (37.5%) (**Table 1**).

Table 1. Contribution (%) of main variables to SDMs of *Rhodanthidium* species and Gastropods.

Variable	MTWQ	PCQ	MTCQ	MTCM	PDQ	PDM	PWQ	PS	SPP
SPECIES									
<i>R. sticticum</i>	42.5*	10 [†]	7.6 [§]	6.3	1.8	4.1	2.1	1.9	-
<i>R. septemdentatum</i>	24*	10.7	21.3 [†]	15 [§]	0.1	2.6	4.9	1	-
<i>R. siculum</i>	0	0	43 [†]	1.2	45.9*	0.3	1	0	-
Snails (all species)	43*	17.9 [§]	0	29.6 [†]	0	0.3	1.2	0.7	-
<i>E. vermiculata</i>	67.7*	8.7 [†]	2.8	5.8 [§]	0.2	1.6	1.3	2.5	-
<i>O. lactea</i>	3.5	11.8 [§]	11.5 [§]	33.7*	1.9	18.5 [†]	1.5	1.1	-
<i>O. punctata</i>	55.6*	14.7 [§]	0	16.1 [†]	0	0	1	0.1	-
<i>S. candidissima</i>	59.1*	6.4 [§]	15.7 [†]	2.5	0.8	0.4	3.3	0.6	-
<i>T. pisana</i>	37 [†]	6.2 [§]	1.3	47.2*	0	0	0.2	0	-
<i>R. sticticum</i> (+snails)	0.6	2	0.3	1.1	1.1	2.5	0.9	2.5	81.3*
<i>R. septemdentatum</i> (+snails)	0.6	0.1	0	0.1	0	0.5	1.4	1.9	90.6*
<i>R. siculum</i> (+snails)	0.1	0	3.3	6.1	6.6	3.2	32.5 [†]	9.1 [§]	37.5*

*First, [†] second and [§] third most important variables for each species.

–, not applicable; MTCM, minimum temperature of coldest month; MTCQ, mean temperature of coldest quarter; MTWQ, mean temperature of wettest quarter; PCQ, precipitation of the coldest quarter; PDM, precipitation of the driest month; PDQ, precipitation of the driest quarter; PS, precipitation seasonality; PWQ, precipitation of the warmest quarter; SPP, snail probability of presence.

The optimal values of the main variables for each *Rhodanthidium* species, obtained from the Maxent response curves, are shown in **Table 2**. A main variable for the three species was MTCQ; *R. sticticum* had a wider range of optimal MTCQ and *R. siculum* a narrower range. For the remaining variables, *R. septemdentatum* presented a very similar optimal value range to that of *R. sticticum*.

Table 2. Optimal (>0.7) suitability values for main variables of SDMs of *Rhodanthidium* species and Gastropods, obtained from Maxent response curves.

Species	MTWQ (°C)	PCQ (mm)	MTCQ (°C)	MTCM (°C)	PDQ (mm)	PDM (mm)	PWQ (mm)	PS (mm)	SPP
<i>R. sticticum</i>	14-20*	50-120 [†]	9-13 [§]	3-8	20-40	0-7	20-40	50-65	-
<i>R. septemdentatum</i>	14-20*	70-120	10-13 [†]	3-8 [†]	-	0-7	70-150	60-80	-
<i>R. siculum</i>	-	-	11-13 [†]	4-7	20-30*	-	20-30	-	-
Snails (all species)	14-20*	60-120 [§]	-	3-8 [†]	-	-	20-30	-	-
<i>E. vermiculata</i>	16-19*	60-100 [†]	9-13	3-9 [§]	-	-	-	150-400	-
<i>O. lactea</i>	14-20	60-110 [§]	10-13 [§]	4-8*	20-40	0-5 [†]	20-45	55-80	-
<i>O. punctata</i>	15-20*	60-110 [§]	-	3-9 [†]	-	-	50-250	-	-
<i>S. candidissima</i>	15-20*	60-120 [§]	10-13 [†]	2-9	-	-	100-170	-	-
<i>T. pisana</i>	15-19 [†]	60-110 [§]	11-13	4-8*	-	-	-	-	-
<i>R. sticticum</i> (+snails)	-	60-120 [§]	-	3-9	20-40	0-10 [†]	-	50-70 [†]	0.75-1*
<i>R. septemdentatum</i> (+snails)	-	70-110	-	-	-	-	90-200 [§]	60-80 [†]	0.7-1*
<i>R. siculum</i> (+snails)	-	-	11-13	4-8	15-25	0-3	20-50 [†]	60-80 [§]	0.65-1*

*First, [†] second and [§] third most important variables for each species.

–, not applicable; MTCM, minimum temperature of coldest month; MTCQ, mean temperature of coldest quarter; MTWQ, mean temperature of wettest quarter; PCQ, precipitation of the coldest quarter; PDM, precipitation of the driest month; PDQ, precipitation of the driest quarter; PS, precipitation seasonality; PWQ, precipitation of the warmest quarter; SPP, snail probability of presence.

Co-occurrence patterns of *Rhodanthidium* and Gastropods

There was high co-occurrence between some of the snail species and the different *Rhodanthidium* species. The snail species with higher co-occurrence with *R. sticticum* was *S. candidissima* (Schoener's co-occurrence index = 0.41), followed by *O. lactea* (0.17) and *E. vermiculata* (0.16), which was the same for *R. septemdentatum* (0.38, 0.20 and 0.19 respectively) and *R. siculum* (0.32, 0.24 and 0.23 respectively). There was some co-occurrence between *R. sticticum* and the other two *Rhodanthidium* species, slightly higher with *R. siculum* (0.17) than with *R. septemdentatum* (0.15) (Table 3).

Table 3. Schoener's co-occurrence index calculated with the "picante" package in R, environmental correlations between species in the component due to environmental variables and residual correlations in the component due to unknown causes.

	<i>R. sticticum</i>	<i>R. septemdentatum</i>	<i>R. siculum</i>
Schoener's co-occurrence index			
<i>R. septemdentatum</i>	0.15	-	-
<i>R. siculum</i>	0.17	0.09	-
Snails (all species)	0.32	0.26	0.07
<i>E. vermiculata</i>	0.16	0.19	0.23
<i>O. lactea</i>	0.17	0.20	0.24
<i>O. punctata</i>	0.13	0.16	0.00
<i>S. candidissima</i>	0.41	0.38	0.32
<i>T. pisana</i>	0.07	0.09	0.04
Environmental correlation			
<i>R. septemdentatum</i>	-0.371	-	-
<i>R. siculum</i>	-0.391	-0.092	-
Snails (all species)	-0.369	0.366	0.535
<i>E. vermiculata</i>	-0.061	-0.431	0.738
<i>O. lactea</i>	-0.246	0.339	0.127
<i>O. punctata</i>	-0.162	-0.112	0.685
<i>S. candidissima</i>	-0.116	-0.425	0.768
<i>T. pisana</i>	-0.451	0.151	0.681
Residual correlation			
<i>R. septemdentatum</i>	0.729	-	-
<i>R. siculum</i>	-0.044	-0.325	-
Snails (all species)	0.269	-0.096	-0.442
<i>E. vermiculata</i>	-0.266	0.159	-0.070
<i>O. lactea</i>	-0.060	-0.030	0.123
<i>O. punctata</i>	0.225	0.086	-0.640
<i>S. candidissima</i>	0.427	0.178	0.523
<i>T. pisana</i>	0.044	-0.022	-0.320

Correlations were calculated using the joint species distribution models script developed by Pollock *et al.* (2014).

—, not applicable.

Environmental correlations between *R. sticticum* and the other bees and between *R. sticticum* and snail species were all negative, whereas those between *R. siculum* and each Gastropod species were positive and high (**Table 3**). For *R. septemdentatum*, environmental correlations with *T. pisana* and *O. lactea* were also positive. There were some noticeable residual correlations: between *R. sticticum* and *R. septemdentatum* (0.729), *R. sticticum* and *S. candidissima* (0.427) and *R. sticticum* with, at least, one snail species (0.269). Residual correlations between *R. siculum* and *S. candidissima* (0.523) were also very high. We found moderately high positive residual correlations between *R. septemdentatum* and *S. candidissima* (0.178) and *E. vermiculata* (0.159), and between *R. siculum* and *O. lactea* (0.123).

DISCUSSION

Our results show that climatic requirements and the presence of snail shells are the main limiting factors in *Rhodanthidium* distribution. As these bees are polylectic, they do not depend on a particular plant or group of plant species (Torné-Noguera *et al.*, 2014; Romero *et al.*, 2020b). Therefore, feeding plants do not seem to play a relevant role in the distribution of these bees. Nevertheless, we are currently investigating this aspect of *Rhodanthidium* biology in more depth.

Snail-shell dependence and snail-shell bees' distribution

First, we found that the use of snail shells not only as nesting substrate, but also as shelter during the night or during adverse weather. The use of Gastropod shells by *Rhodanthidium* has, so far, just been reported as strictly nesting behaviour, although in this study we found that adult individuals of the three studied species use snail shells for shelter in rainy, cold and/or windy days (**Fig. 1**). The activity of *R. sticticum* has previously been described as limited to sunny days (Torres *et al.*, 2001), but there were no reports on the weather conditions preferred by *R. septemdentatum* and *R. siculum*. It is noteworthy that, in spite of their strong territorial behaviour, we have observed up to six males of *R. sticticum* sheltering in the same shell (**Table S3**, in a shell of *O. punctata* from Cuenca). Moreover, we have also found individuals of *R. sticticum* and *R. siculum* sharing the same shell (**Table S3**, in a shell of *O. lactea* from Castro Marim). Females of *R. septemdentatum* and *R. sticticum* also hide inside the shells during the night, while males usually sleep below flowers. As noticed by Bosch *et al.* (1993), *R. sticticum* does not nest well inside other cavities, which was supported by Müller *et al.* (2018), who described these species of the genus *Rhodanthidium* as obligate snail shell nesters. Considering the similarity in the behavior of the three species, we can assume that, in terms of sheltering, they behave similarly. These circumstances make the presence of empty Gastropod shells essential for the survival of the three species.

Although several terrestrial Arthropod species use snail shells as shelter and nests, there are few studies on this particular behaviour (Trpis, 1973; Gess & Gess, 1999, 2008; Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Aguib *et al.*, 2017; Erbar & Leins, 2017). However, the importance of nesting resources for the establishment of bee communities has been studied in more detail

(Potts *et al.*, 2005). Snail shell nesting is a common behaviour in species of the tribe Osmiini (Cane *et al.*, 2007; Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Aguib *et al.*, 2017; Müller *et al.*, 2018). According to Müller *et al.* (2018), the genus in which this behavior is more common is *Osmia* Panzer (35 species). Shells of the genus *Sphincterochila* are commonly used by species of the tribe Osmiini (Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Müller *et al.*, 2018), whereas in other parts of the world other snail species are used by Osmiini bees (North America: Rau, 1937; Cane *et al.*, 2007; Japan: Kandori *et al.*, 2010; Turkey: Özbek, 2013). However, only four species of *Rhodanthidium* and two of *Afranthidium* Michener, 1948 in the tribe Anthidiini are known to nest inside snail shells (Gess & Gess, 1999, 2008; Müller *et al.*, 2018). Reports on this nesting habit by species of *Rhodanthidium* are scarce (*R. sticticum*: Dusmet, 1908; Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Torné-Noguera *et al.*, 2014; *R. septemdentatum*: Dusmet, 1908; Torné-Noguera *et al.*, 2014; *R. siculum*: Graeffe, 1906; Erbar & Leins, 2017; *R. infuscatum*: Ortiz-Sánchez, 1990). All the known Gastropod species whose shells are used by *Rhodanthidium* in the Iberian Peninsula are species from arid Mediterranean environments, well adapted to the scarcity of moisture and high temperatures (Gasull, 1975; Moreno-Rueda & Collantes-Martín, 2007; Moreno-Rueda *et al.*, 2008). These species, like most of land snails, thrive in limestone areas due to the availability of calcium needed for their shells (Wäreborn, 1970; Ireland, 1991). Other snail species with similar ecological requirements, characteristics and distribution (Gasull, 1975) could be used by these *Rhodanthidium* species as nests and shelter in the studied area, as described from other locations (*e.g.* Algeria: Lucas, 1846). In line with our results, Kandori *et al.* (2010) showed that *Osmia orientalis* Benoist, 1929 prefers intact shells of larger species. Our data shows that shells of *T. pisana*, the smallest of the snail species used by *Rhodanthidium*, seem to be the least preferred (only 3.9% of all used shells, Table S3) and just for sheltering. As population records of *R. sticticum* appeared in areas where none of the studied snails inhabit, the use of other Gastropod species by *R. sticticum* is expected. Further research on this topic should be carried out in order to obtain more precise knowledge on the requirements of *Rhodanthidium*.

Climatic requirements and climatic models for the snail-shell bees

Distribution models are simplifications of the reality, where a greater number of known and unknown variables are operating. Therefore, researcher decisions have a great impact on the obtained results (Elith & Graham, 2009; Dormann *et al.*, 2012). However, we are

confident on the accuracy of the generated models to represent the known distribution of the studied species, despite the flaws of SDMs.

Current distribution of the three snail-shell bees covers mostly limestone and clay areas in the south, east and center of the Iberian Peninsula and the Balearic Islands (**Fig. S2**). Limestone areas are rich in Gastropods, covering a large part of the Mediterranean. Temperature and precipitation appear to account for a high fraction of the distributional pattern of the bees' distribution. Considering this, we obtained values corresponding to Mediterranean climatic regions (De Castro *et al.*, 2005), observing some differences among species. *Rhodanthidium siculum* presents a smaller suitable area, to the south of the Peninsula, prefers Mediterranean arid climate (warmer, drier) and tolerates a smaller range of optimal conditions. The scarcity of *R. siculum* in the Iberian Peninsula could be indicative of its rarity due to its climatic preferences, in agreement with the status of conservation of the populations (Ornosa & Ortiz-Sánchez, 2014). However, the suitable ranges of *R. septemdentatum* and *R. sticticum* fit into classic Mediterranean climate values, with slight differences among them (*R. septemdentatum* range tends to a more continental and wetter Mediterranean). The differences in optimal values for their suitable areas are well reflected in their whole distribution. *Rhodanthidium siculum* is mostly distributed across northern Africa (Morocco, Tunisia and Algeria) and Sicily (Ornosa & Ortiz-Sánchez, 2014), areas that, together with the south of the Iberian Peninsula, show a type of hotter and drier Mediterranean climate. *Rhodanthidium sticticum* could be considered intermediate, with its range in northern Africa and southern Europe, including the south of France and the Italian Peninsula, in purely Mediterranean areas. *Rhodanthidium septemdentatum* has the most spread distribution, from Portugal to Iran, and to the north up to Central Europe, but it does not occur in northern Africa, thus appearing in more continental areas (Ornosa *et al.*, 2008). Hence, there is a transition between species, with *R. siculum* preferring warmer and drier conditions, *R. septemdentatum* that can better survive big shifts in temperature and precipitation seasonality and *R. sticticum* limiting itself to the softer Mediterranean climate. In general, species distributions at a large scale are conditioned by climate (Blundo *et al.*, 2012; Bucklin *et al.*, 2015), but regional and local distributions are more affected by other factors, including biotic variables, such as nesting substrate or food resources (Austin & Van

Niel, 2010; Pollock *et al.*, 2014). Nesting shells seem to limit occurrences of all three *Rhodanthidium* species.

Co-occurrence

Other studies comparing SDMs with only climatic variables or SDMs with both climatic and biotic variables have shown that biotic interactions have discernible effects on species distributions (Araújo & Luoto, 2007; Meier *et al.*, 2010; Giannini *et al.*, 2013a; Wisz *et al.*, 2013). In this study, we show that *Rhodanthidium* is positively affected by the presence of empty snail shells, although we could assume that snail species would be unaffected by the presence or absence of *Rhodanthidium* bees in the area, as the use of shells only occurs after they are dead. Consequently, Gastropod species are an unlinked biotic element that could be used as an independent biotic factor in models.

Species co-occurrence may be due to shared environmental responses among the species, but also to other causes, such as shared phylogenetic history or biotic interactions (Pollock *et al.*, 2014). The environmental component of *R. sticticum* with all the other species was negative, meaning that co-occurrence between them should be explained by other factors. Similar conclusions were obtained for *R. septemdentatum*, *E. vermiculata* and *S. candidissima*. However, the environmental component for *R. siculum* with all the Gastropod species was positive and high, thus explaining to a large degree their co-occurrence.

The residual component of *R. sticticum* and *R. septemdentatum* likely responds to the fact that they occur in similar habitats, where other environmental variables, apart from the ones analyzed, could have an effect (*e.g.* sun radiation or distribution of limestone areas). It could be possible that they co-occur because of shared phylogenetic history, as they do not interbreed (Pollock *et al.*, 2014); however, a shared response to other environmental variables is more likely. There is no noticeable co-occurrence between *R. siculum* and the other two *Rhodanthidium* species. The studied species do not seem to have high dispersal potential, as they do not fly long distances. For this reason, dispersal limitation together with species competition could be missing variables recognized by the residual components of the JSDM analysis.

Schoener's co-occurrence between the bees and the Gastropod species is high for *Rhodanthidium* and *E. vermiculata* and *O. lactea*, but *S. candidissima* is the Gastropod species that *Rhodanthidium* co-occurs the most with, being also the one with the highest residual correlations (**Table 3**). The distribution of this species spreads across the Mediterranean coast of the Iberian Peninsula, where *R. sticticum*, *R. septemdentatum* and *R. siculum* thrive. It seems to be an attractive species for other Arthropods to hide and nest in (Moreno-Rueda *et al.*, 2008), and probably *Rhodanthidium* depends on *Sphincterochila* shells more than on others.

CONCLUSIONS

Our results show that the distribution of *R. sticticum*, *R. septemdentatum* and *R. siculum* in the Iberian Peninsula spreads across limestone areas with Mediterranean climate due to climate suitability and the presence and abundance of empty snail shells. The snail-shell bees depend on the presence of these resources, primarily of Mediterranean, calcicolous shell species for nesting and sheltering. Co-occurrence between Gastropod species and dependent snail-shell bees is partially explained by environmental correlations. However, the importance of residual correlations (*e.g.* the use of biotic resources) seems to be more determining at the studied scale. Further research is needed in order to determine if availability of snail shells constrains the distribution of the species at a larger scale, and to assess other Gastropod species used by snail-nesting *Rhodanthidium*.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1. Origin of *Rhodanthidium* presence points.

	<i>R. septemdentatum</i>	<i>R. siculum</i>	<i>R. sticticum</i>
Field surveys	10	2	33
Collections	24	2	29
Bibliography	123	20	184
TOTAL	157	24	246

Table S2. Evaluation metrics of Maxent ecological niche modeling generated by ENMeval: feature class (FC), regularization multiplier (RM), area under the curve (AUC) and Akaike information criterion (AICc).

Species	FC	RM	AUC	AICc
<i>R. septemdentatum</i> (+snails)	L	4	0.829	0
<i>R. siculum</i> (+snails)	L	2	0.917	420
<i>R. sticticum</i> (+snails)	LQ	1.5	0.823	4467
<i>R. septemdentatum</i>	LQ	3.5	0.826	2770
<i>R. siculum</i>	H	3	0.927	722
<i>R. sticticum</i>	LQ	0.5	0.805	4655
<i>E. vermiculata</i>	LQ	1	0.795	724
<i>O. lactea</i>	L	0.5	0.847	1336
<i>O. punctata</i>	L	4	0.871	813
<i>S. candidissima</i>	LQ	3.5	0.83	3579
<i>T. pisana</i>	L	1	0.937	540
All snails	L	4	0.813	4973

Table S3. Gastropod species used by *Rhodanthidium*, identified during field works. In the table we include number of shells in each location for each species; *Rhodanthidium* species found using it; males, females and percentage of snail species.

Species	Locality	Province	Shells	<i>R. sticticum</i>			<i>R. siculum</i>		<i>R. septemdentatum</i>		%
				♂	♀	nest	♂	♀	♂	♀	
<i>Eobania vermiculata</i>	Espiel	Córdoba	3	6							6.5
	Monzón	Huesca	1						1		
	Orihuela	Alicante	1	1							
<i>Otala lactea</i>	Almuñécar	Granada	2	1	2						37.7
	Cabo Cope	Murcia	1			1					
	Espiel	Córdoba	16	12	6						
	Castro Marím	Algarve	10	3	12		3	1			
<i>Otala punctata</i>	Bélmez	Córdoba	6	4	2						22.1
	Cuenca	Cuenca	3	10	1						
	Nuévalos	Zaragoza	2	1	1	1					
	Chelva	Valencia	1	3							
	Monzón	Huesca	4	2	1	1			1	1	
	Orihuela	Alicante	1	1							
<i>Sphincterochila candidissima</i>	Caravaca	Murcia	4	1	3						29.9
	Chelva	Valencia	3	3	1						
	Orihuela	Alicante	1	1							
	Petrer sandfield	Alicante	3	1	2						
	Castro Marím	Algarve	6	1	4		2				
	Sagunto castle	Valencia	1		1						
	Lagos	Algarve	1		1						
	Tibi	Alicante	4	4	2						
<i>Theba pisana</i>	Espiel	Córdoba	1	1							3.9
	El Saler	Valencia	2	0	2						
TOTAL shells			77	56	41	3	5	1	2	1	
TOTAL individuals			103		94		6			3	

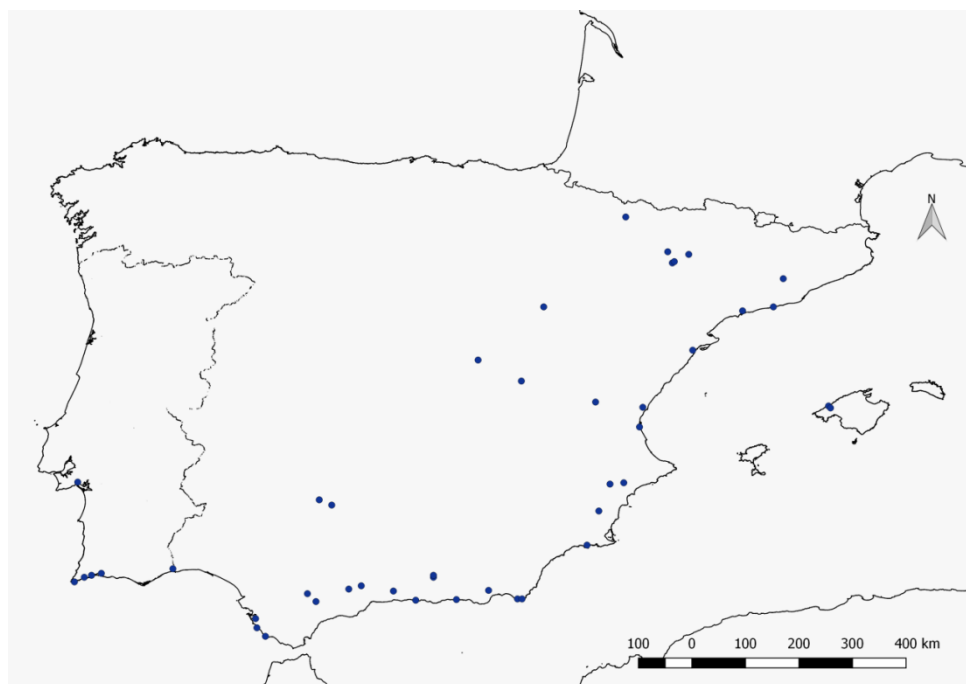


Figure S1. Populations of *Rhodanthidium* sampled during the field surveys.

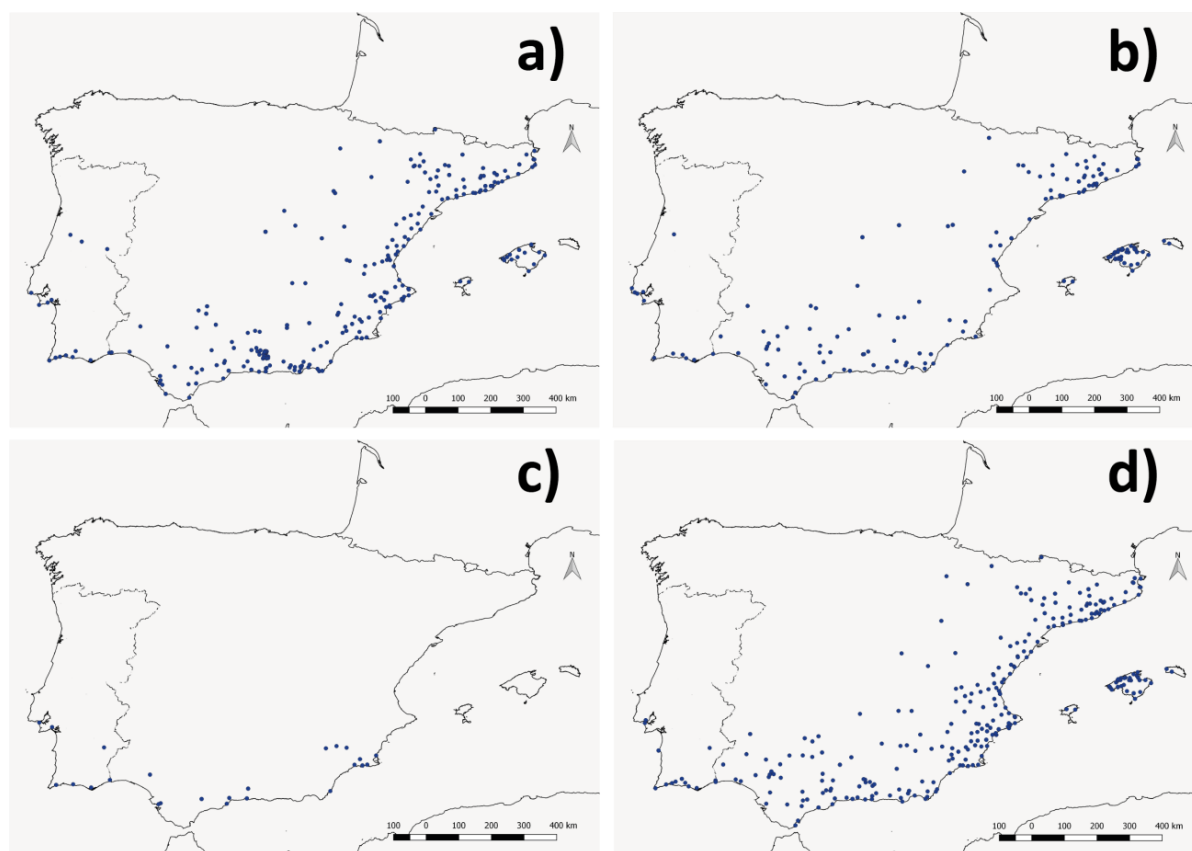


Figure S2. Presence points: (a) *R. sticticum*, (b) *R. septemdentatum*, (c) *R. siculum*, (d) all Gastropod species used by *Rhodanthidium* (*Eobania vermiculata*, *Otala lactea*, *Otala punctata*, *Sphincterochila candidissima* and *Theba pisana*).

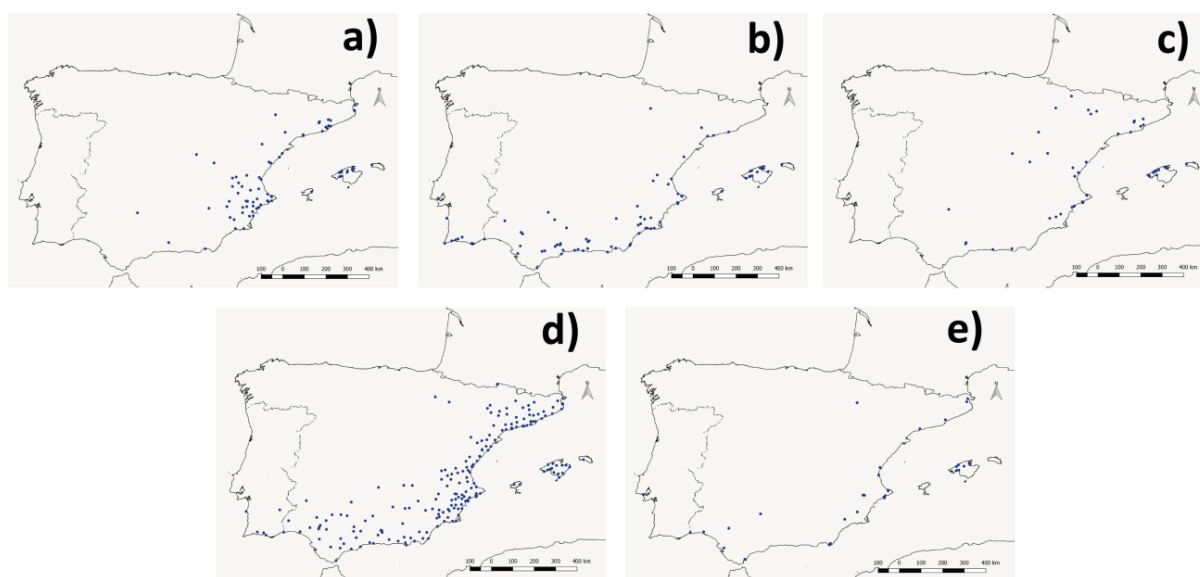


Figure S3. Presence points: (a) *Eobania vermiculata*, (b) *Otala lactea*, (c) *Otala punctata*, (d) *Sphincterochila candidissima*, (e) *Theba pisana*.

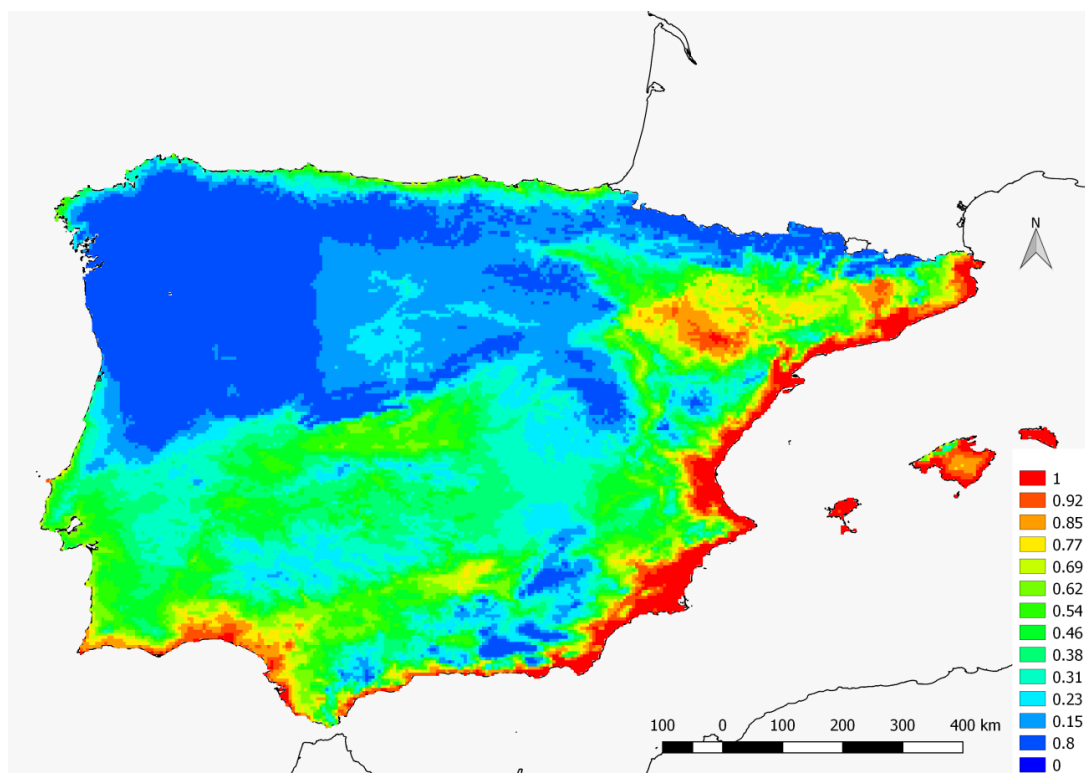


Figure S4. Species distribution model for the Gastropod species used by Rhodanthidium (cloglog output of a single model obtained with the presence data of all the Gastropod species). Red and warm colors indicate high probability of suitable conditions, green indicates conditions typical of those where the species is found and blue indicates low predicted probability of suitable conditions.

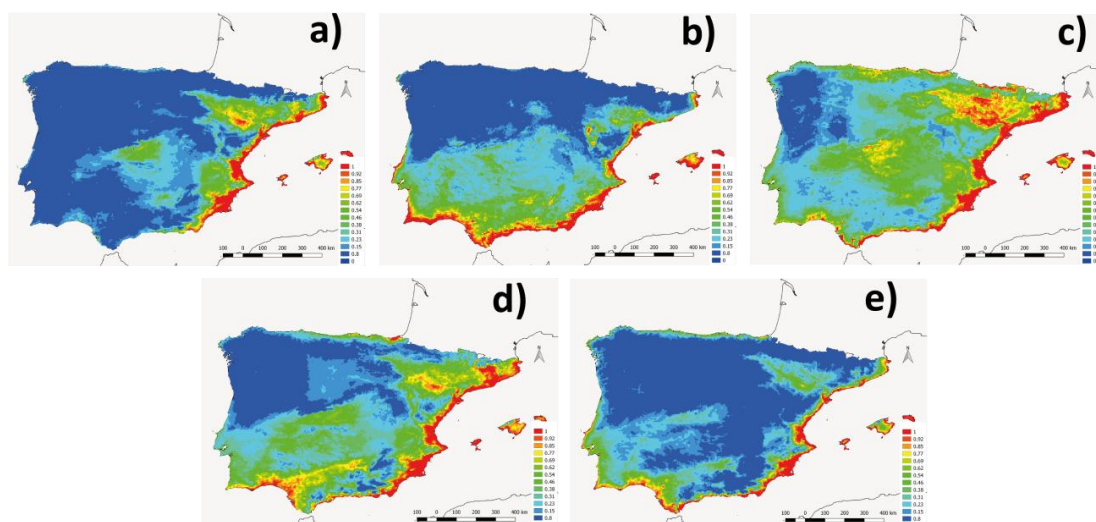


Figure S5. Gastropod species distribution models (cloglog output). Red and warm colors indicate high probability of suitable conditions, green indicates conditions typical of those where the species is found and blue indicates low predicted probability of suitable conditions. (a) *Eobania vermiculata*. (b) *Otala lactea*. (c) *O. punctata*. (d) *Sphincterochila candidissima*. (e) *Theba pisana*.

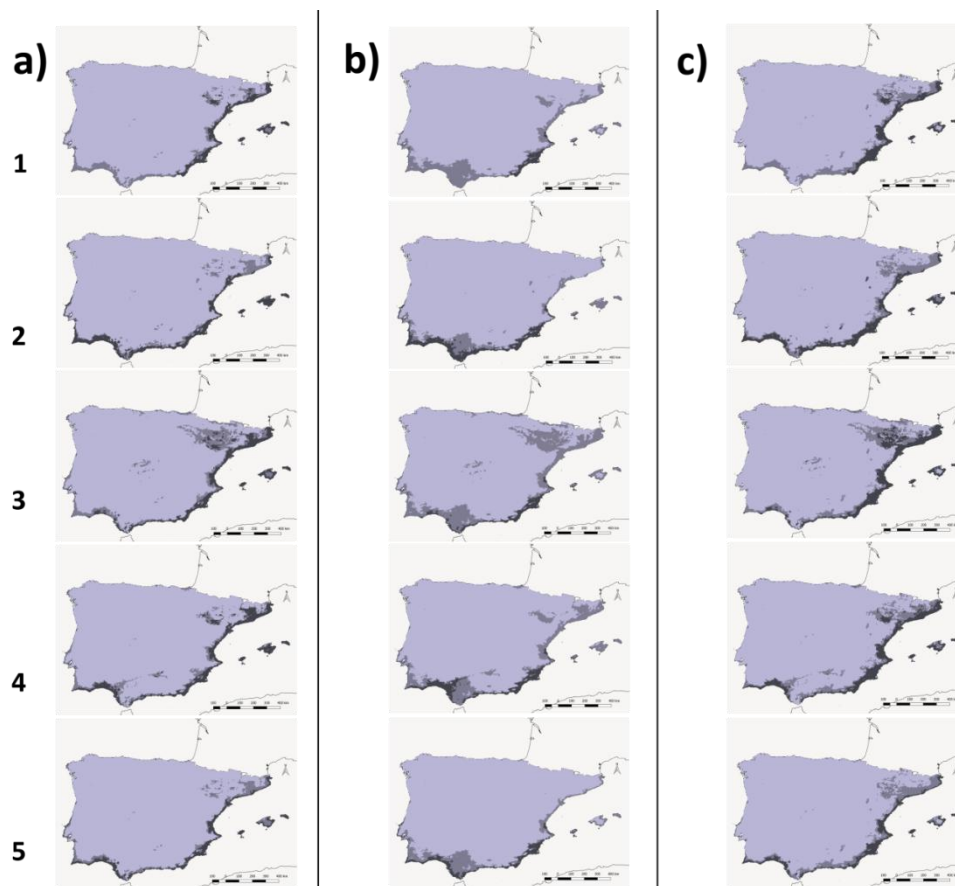
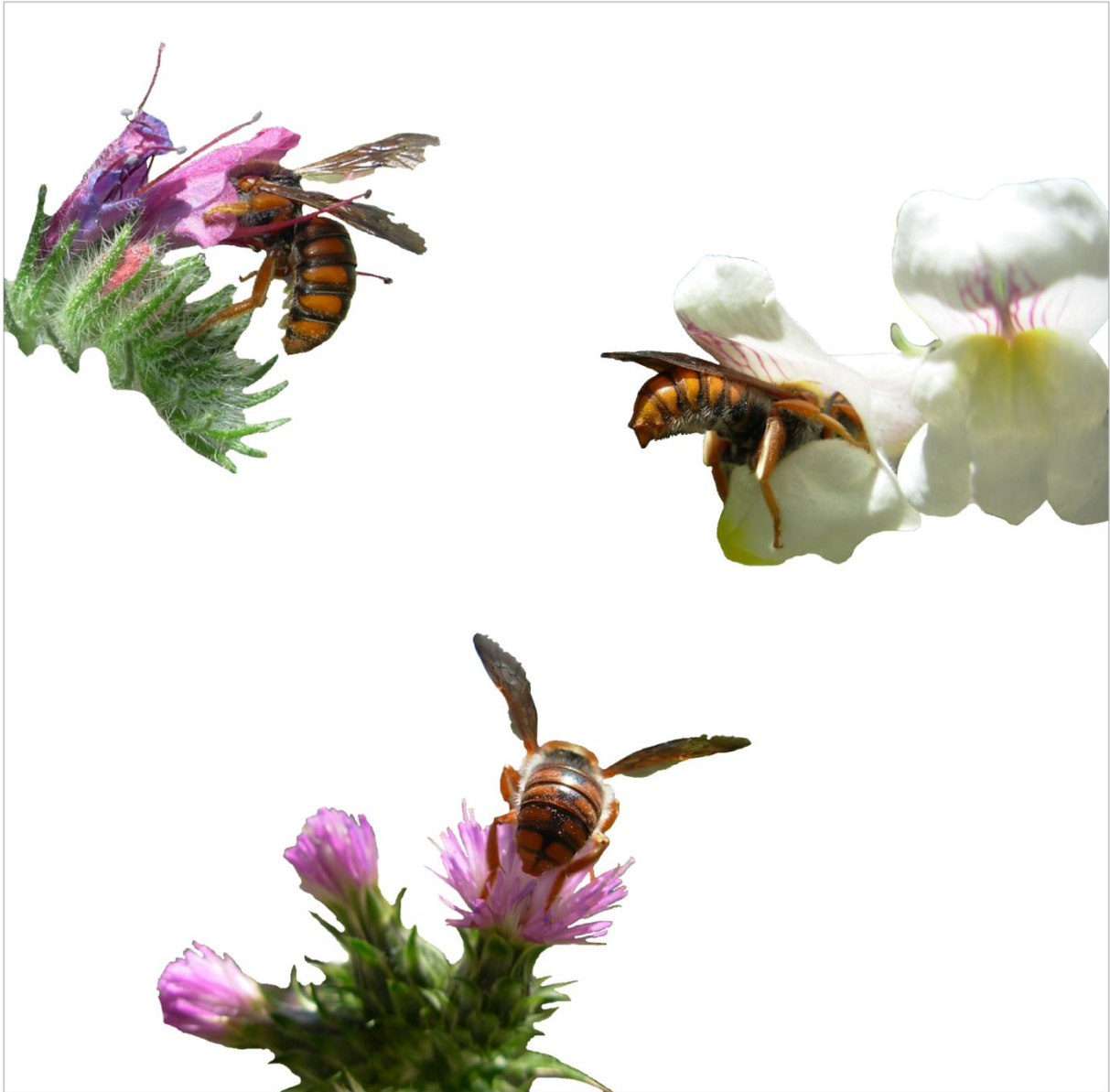


Figure S6. Spatial overlap of highly suitable areas (>0.7) of each *Rhodanthidium* species (a, b, c columns; dark gray) with each snail species (1–5): (a) *R. septemdentatum*, (b) *R. siculum*, (c) *R. sticticum*; (i) *Eobania vermiculata*, (ii) *Otala lactea*, (iii) *O. punctata*, (iv) *Sphincterochila candidissima*, (v) *Theba pisana*.

CAPÍTULO 4

Abejas solitarias (Hymenoptera, Apoidea) como conectores en redes de polinización: el caso de *Rhodanthidium* Isensee, 1927.



Romero, D., Ornos, C., Vargas, P. & Olesen, J.M., 2020. Solitary bees (Hymenoptera, Apoidea) as connectors in pollination networks: the case of *Rhodanthidium*. *Apidologie*, DOI: 10.1007/s13592-020-00765-2.

RESUMEN

Las abejas (Apoidea) son el principal grupo de polinizadores de los ecosistemas mediterráneos, y poseen un papel dominante como conectores de módulos (grupos de especies estrechamente relacionadas en las redes de polinización), si bien, aún es escaso el conocimiento que existe sobre el rol de especies concretas. En este trabajo, se analizaron los datos de cuatro redes ibéricas, prestando especial atención al papel que juega en la modularidad de las redes la especie solitaria, nidificante en caracoles, *Rhodanthidium sticticum*. Los resultados mostraron que *R. sticticum* es un polinizador generalista, que actúa como un importante conector entre módulos, e influye altamente en la topología de las redes en las que interviene. Por otra parte, se analizaron, asimismo, 51 redes de polinización de todo el mundo para determinar el rol modular de otras especies de abejas de Anthidiini. Los representantes de esta tribu están presentes en 14 de esas redes, y, dentro de ellas, otra especie del mismo género *Rhodanthidium*, además de otras dos del género *Anthidium*, resultaron tener un papel como conectores dentro de sus respectivas redes.

ABSTRACT

Bees (Apoidea) are the main pollinator group in Mediterranean ecosystems, having a dominant role as connectors of modules (groups of species tightly linked in pollination networks), but little is known about the role of particular species. Here, we analyse data from four Iberian networks, and we pay special attention to the role played by the solitary snail-shell bee *Rhodanthidium sticticum* (Fabricius, 1787) in shaping network modularity. Our results show that *R. sticticum* is a pollination generalist that acts as an important connector of modules, strongly influencing the topology of its networks. We also examined 51 networks from all over the World to determine the modular role of other Anthidiini species. Anthidiini were present in 14 of these networks and another *Rhodanthidium* species, but also two *Anthidium* species, played a role as connectors in their respective networks.

INTRODUCTION

Within an ecological space, plant-flower visitor mutualistic interactions combine into pollination networks (Delmas *et al.*, 2019; Herrera, 2019). Pollination network studies may encompass all pollinator species within a given study area and period (total pollination networks) or slice out certain groups of special interest, *e.g.* birds (Rodríguez-Rodríguez & Valido, 2008; Traveset *et al.*, 2015).

Here, we focus upon the bees. Their network role, as a group, has recently been addressed in Mello *et al.* (2013), Tucker and Rehan (2016), Gresty *et al.* (2018) and Jauker *et al.* (2019). Thus, by now, we know that bees are commonplace in pollination networks and that they connect different modules, *i.e.* tightly linked network groups (Olesen *et al.*, 2007), but the ecological role of particular species for network topology remains uncertain. This information could be very valuable for the development of network conservation plans, in particular those which focus upon ecosystem functionality.

In general, there is plenty of knowledge on the relationship between phenotypic traits and topological roles, as species morphology frequently modulates network structure by both facilitating and hindering possible interactions (Olesen *et al.*, 2010; Ibáñez, 2012). That is the case for birds' bills size and flower size (Biddick & Burns, 2018), bees' proboscides length and flowers' spur length (Blanco-Pastor *et al.*, 2015) and oil flowers and long-legged bees (Pauw *et al.*, 2017). However, not so much is known about the importance to networks of taxa with special biology, such as solitary and territorial bees or bees with specific nesting requirements. The ecological role of particular species in networks has only recently been addressed (Olesen *et al.*, 2018) and it is unknown for most published networks and the species involved. The latter step is important because it bridges the gap between ecological network theory and the ecology of individual species.

As an example, we here analyse in detail the ecology and network roles played by *Rhodanthidium sticticum* (Fabricius, 1787) (**Fig. 1**), a solitary bee distributed across the western Mediterranean (Ornosa *et al.*, 2008). It belongs to the tribe Anthidiini, which is widespread in the world in terms of its genera. Its species are solitary and territorial (Michener, 2007). However, the more detailed ecology is poorly studied, *e.g.* nesting and territorial behavior, and pollination ecology (Torres *et al.*, 2001; Torné-Noguera *et al.*, 2014). *Rhodanthidium sticticum* appears to be one of the most abundant species and a major

pollinator in some Mediterranean plant communities (Torné-Noguera *et al.*, 2014), being essential for some threatened and endemic species (Blanco-Pastor *et al.*, 2015; Vargas *et al.*, 2017). It is active during the entire flowering season (from the beginning of March to the end of June). Low pollen specialization has been recorded for *R. sticticum*, and thus it is considered polylectic, *i.e.* it collects pollen from many unrelated plant families, at least in parts of its range (Torné-Noguera *et al.*, 2014).

In a study of 18 Iberian plant species (Vargas *et al.*, 2017), this bee species was the main pollinator of five snapdragons or *Antirrhinum* species (*A. barrelieri*, *A. charidemi*, *A. hispanicum*, *A. molle* and *A. microphyllum*) and a dominant pollinator of three other snapdragons (*A. australe*, *A. mollissimum* and *A. pulverulentum*), playing a key role to the survival of these species, of which some are threatened. Indeed, the pollination effectiveness of *R. sticticum* clearly favored the reproductive success of these *Antirrhineae* species (Vargas *et al.*, 2010). Consequently, *R. sticticum* could also be a selection factor in snapdragon evolution, as it is the case for the occluded corolla evolution of several species of the closely related *Linaria* (Blanco-Pastor *et al.*, 2015). *Rhodanthidium sticticum* may then play both an ecological and evolutionary role to *Antirrhinum* species, but its functional role in entire communities in which snapdragons are partners remains unknown, although we expect bees in general and *R. sticticum* in particular to be relevant connectors between network modules; we do so, because they visit a highly diverse group of plants. Over 85% of all plant and pollinator species in pollination networks are of peripheral importance, *i.e.* they only interact with one or few other species (Olesen *et al.*, 2007).

However, the last 15% are structurally important. They are either hubs, *i.e.* highly linked species within their own module, connectors linking different modules, or both. If any of these key species go extinct, modules and networks may disintegrate and trigger cascades of local extinction (Memmott *et al.*, 2004; Kaiser-Bunbury *et al.*, 2010). Thus, hubs and connectors should receive conservation priority. Our present hypothesis is that *R. sticticum* plays an essential structuring role in Mediterranean pollination networks in which *Antirrhinum* species are members. By essential role we mean that it connects network modules and contributes to the structure and thus stability of the networks. Our objectives become: (i) to analyse different plant communities where the interaction *Rhodanthidium-Antirrhinum* occurs, (ii) to determine the specific network role of *R. sticticum* in these

communities; and (iii) to analyse the role of other Anthidiini species and, especially other *Rhodanthidium* species.

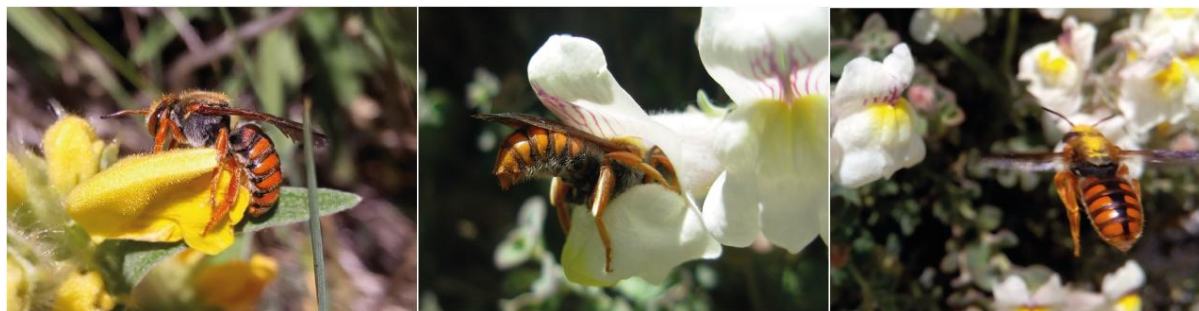


Figure 1. Female (left and right) and male (center) of *Rhodanthidium sticticum*.

MATERIAL AND METHODS

Study sites and interaction sampling

Previously, we have observed the interaction between *Rhodanthidium* and *Antirrhinum* in eight communities in the Iberian Peninsula (Vargas *et al.*, 2017), four of these were selected and field surveys performed. By choosing these four locations we obtained a range in level of visitation frequency performed by *R. sticticum* to different *Antirrhinum* species. The *Antirrhinum* species were *A. molle* (Huesca, Gabasa; 42.007153°, 0.416735°) and *A. microphyllum* (Guadalajara, Buendía; 40.394967°, -2.791320°), both with *R. sticticum* as their main pollinator (> 50% of visits), *A. mollissimum* (Almería, Enix; 36.877929°, -2.609264°) with *R. sticticum* as its predominant pollinator (> 25% of visits), and *A. pulverulentum* (Zaragoza, Nuévalos; 41.213594°, -1.791900°) with *R. sticticum* as a secondary pollinator (< 25% of visits) (Vargas *et al.*, 2017).

Plant-pollinator interactions were observed in May and June in 2017 and 2018, during the flowering peak of most plant species and diurnally from 10:00 to 17:00 h. Each locality was sampled during five days (20-25 hours in total per locality). Sampling followed nonlinear transects covering vegetation patches of the different plant species within the area. The surveys were done by direct observation. An interaction was recorded when a visitor touched the flower reproductive parts, but not when it only landed on the flowers. Individuals of visitor species were captured and identified, and are deposited in the Entomology Collection of the Complutense University (UCME), Madrid. The identification of

the different visitors was done with the help of identification keys and the comparison with specimens deposited in the UCME.

Network structural properties

For each locality, unweighted or qualitative, undirected networks were built using the bipartite package (Dormann *et al.*, 2008) in RStudio 1.1.383 (RStudio Team, 2016) to calculate the following network structural properties: Number of visitor species (A); number of plant species (P); number of potential interactions ($A \times P$); number of observed interactions (I); and connectance ($C = I / AP$). Other parameters were calculated, and are included in Table S2. Connectance is the ratio between the number of established and potential interactions (Martínez, 1992; Delmas *et al.*, 2019). Proportions of the four most frequent visitor orders (Coleoptera, Diptera, Hymenoptera and Lepidoptera, the main pollinator groups in temperate areas) by species and by number of visits and proportion of bees found in the networks were also calculated. Nestedness analyses were performed using Aninhado 3.0 (Bangu) (Guimaraes & Guimaraes, 2006; Almeida-Neto *et al.*, 2008). Values for modularity level (M), number of modules, percentages of connectors, module hubs and ecologically relevant species were calculated after performing modularity analysis. Species are defined as ecologically relevant to the network when they have one of three ecological roles (connector, network hub or module hub), *i.e.* we did not analyse further the group of species categorized by the modularity analysis as peripheral.

Modularity and species' ecological roles

Modularity (M) is the tendency of a network to be organized into well-delimited groups, called modules (Olesen *et al.*, 2007; Jordano *et al.*, 2009; Dupont & Olesen, 2012). In particular, when links are mostly inside modules, and connectedness between modules is low, modularity becomes high. Modularity analyses were performed with Netcarto (Guimerà & Amaral, 2005a, b). Statistical significance of M was assessed by comparing the obtained M with modularity values for 100 randomizations of each network (iteration factor 1, cooling factor 0.99, and final temperature 0).

In order to identify the ecologically relevant species in the networks we analysed two species parameters (output values from the modularity analysis): z (how well-connected a species is inside its own module) and c (how well-connected a species is to species in other

modules) (Guimerà & Amaral, 2005a; Olesen *et al.*, 2007). Olesen *et al.* (2007) sorted all species in a pollination network into four categories: peripherals, connectors, module hubs and network hubs. According to that classification, species with within-module values (z) ≥ 2.5 were categorized as module hubs, and species with between-module values (c) ≥ 0.62 were categorized as connectors. Species with both, (z) ≥ 2.5 and (c) ≥ 0.62 , were considered network hubs and the rest of species were categorized as peripherals.

Additionally, 51 pollination networks from Argentina, Australia, Azores, Canada, the Canary Islands, Chile, Denmark, Galapagos, Greece, Greenland, Jamaica, Japan, Mallorca, Mauritius, New Zealand, continental Spain, Sweden, USA and Venezuela, obtained from the dataset included in Olesen *et al.* (2007), were analysed in order to locate other Anthidiini species and, more specifically, other *Rhodanthidium* species. Modularity analyses were performed to determine the role of the different Anthidiini species in the networks where this tribe was present, using the same parameters as in our Iberian study.

RESULTS

Rhodanthidium-Antirrhinum networks

Modularity (M) was significant in the four networks, although it was low in Nuévalos. Nestedness ($NODF$) was only significant in Nuévalos (**Table 1**). To compare other parameters, see **Table S2**.

Table 1. Network structural properties at the four Iberian localities.

Dataset	A	P	A x P	I	C	M	No. of modules	% conn.	% mod. hubs	NODF
Buendía	65	18	1170	119	10.2	0.54*	7	12.0	2.4	5.95
Énix	33	29	957	91	7.5	0.52*	6	16.1	0.0	7.82
Gabasa	83	22	1826	123	6.7	0.66*	9	4.8	3.8	3.35
Nuévalos	23	16	368	56	15.2	0.46*	5	7.7	2.6	13.4*

Nº of all visitor species (A); Nº of plant species (P); Nº of potential interactions (AXP); Nº of interactions (I); Connectance (C); Nº of modules; percentage of connectors (% conn.), percentage of module hubs (% mod. hubs), nestedness ($NODF$). * $P < 0.05$. In addition, there was also one network hub in Buendía (*Ruta angustifolia*) and Énix (*Rhodanthidium sticticum*) (not included in the table).

In the four networks, Hymenoptera was the most species-rich visitor order (**Fig. 2a**) and a vast majority of them were bees. In Buendía and Énix, the proportion of Hymenoptera was

67%. In Énix 97% of Hymenopterans were bees, whilst in Buendía this proportion was 71%. In Gabasa, the proportion of Hymenoptera was 69% (83% of these were bees). In Nuévalos, 77% were Hymenoptera (94% of these were bees).

Between 76 and 94% of the total number of visits (Fig. 2b) were performed by Hymenopteran and 70% (Buendía), 82% (Énix), 76% (Gabasa) and 93% (Nuévalos) by bees.

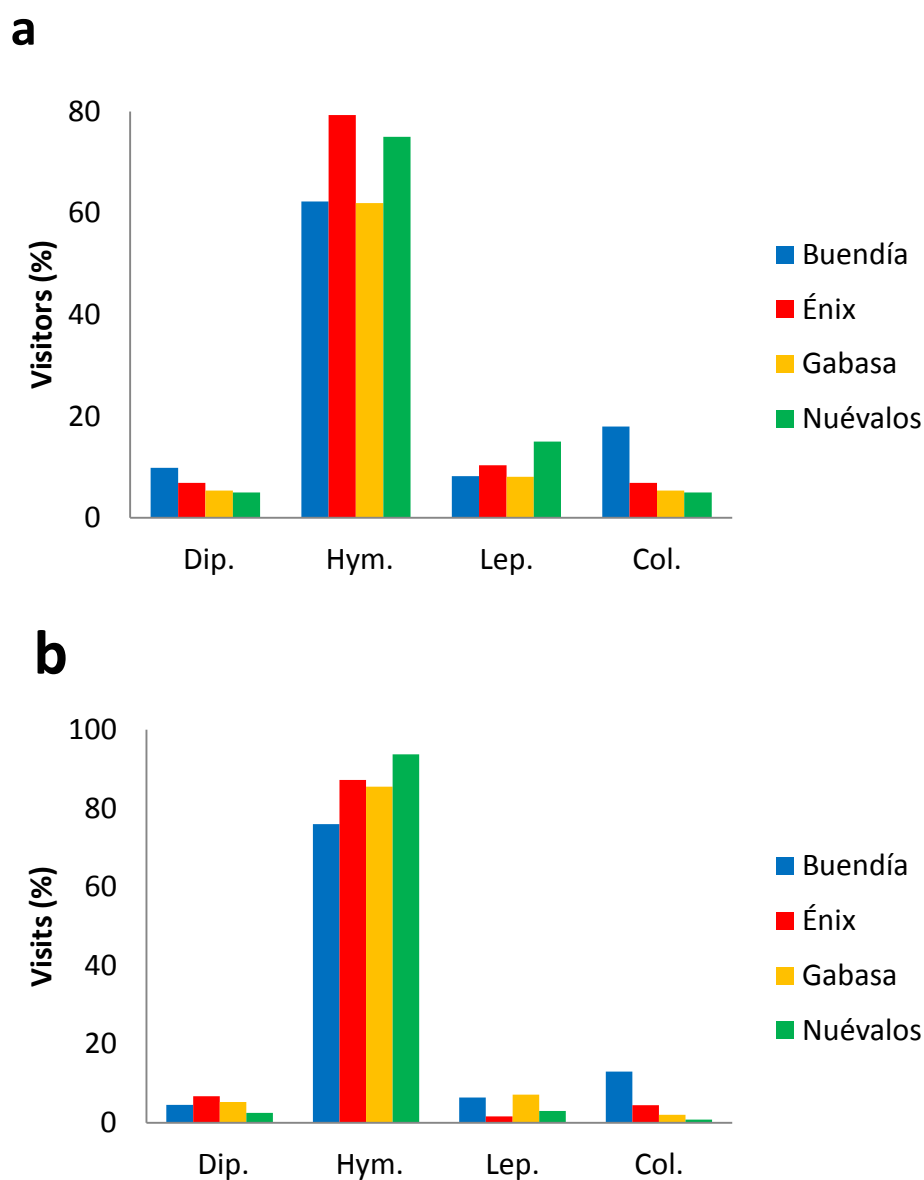


Figure 2. (a) Proportion of visitor species per insect order in Buendía, Énix, Gabasa and Nuévalos. Col., Coleoptera; Dip., Diptera; Hym., Hymenoptera; Lep., Lepidoptera. (b) Proportion of visits per insect order in Buendía, Énix, Gabasa and Nuévalos. Col., Coleoptera; Dip., Diptera; Hym., Hymenoptera; Lep., Lepidoptera.

Modularity

In the four networks, most connectors were pollinators, whereas all module hubs were plants. Pollinator connectors were Coleoptera and Hymenoptera, but none were Diptera or Lepidoptera (**Fig. 3a**, the role of all species is listed in **Table S1a-S1d**). In all the networks, at least one third of the connectors were bees; Gabasa is the locality with most bee species being connectors (75%) (**Fig. 3b**). *Rhodanthidium sticticum* was a connector in three of the networks, and a network hub in Énix.

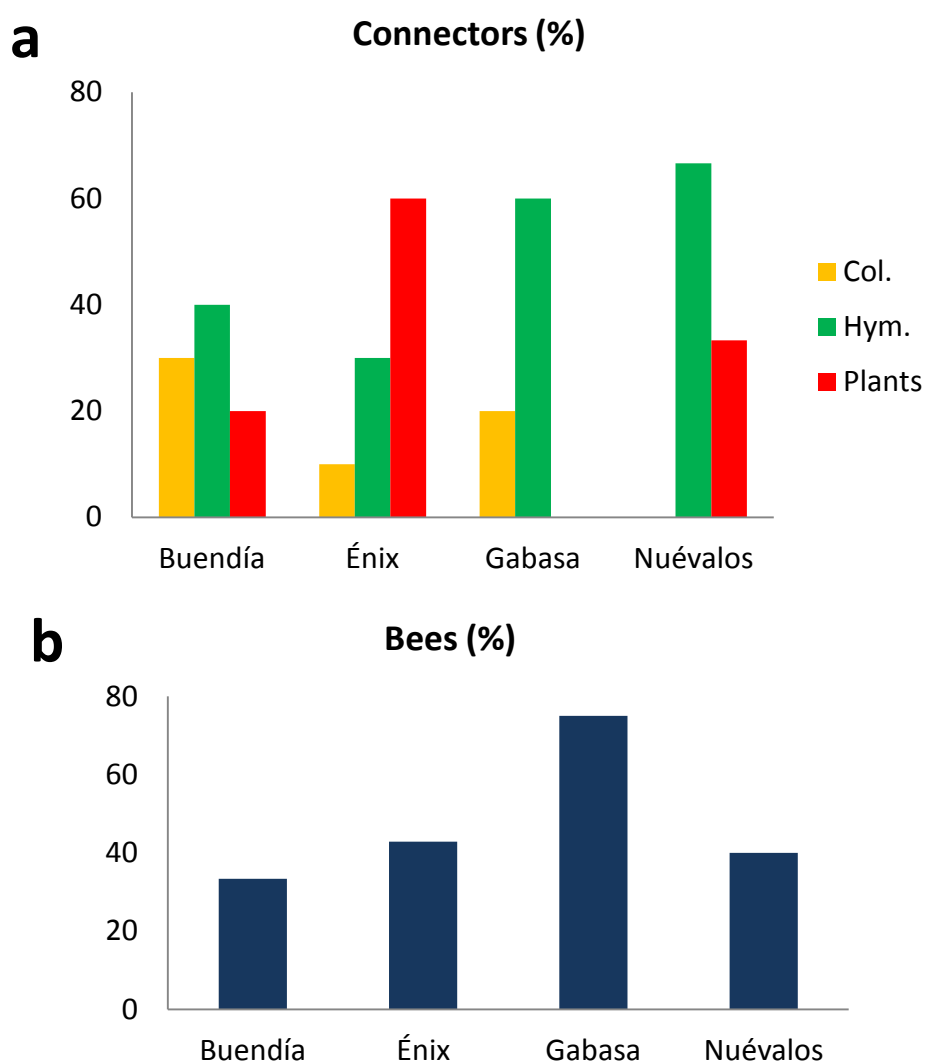


Figure 3. (a) Percentage of connectors per insect order in Buendía, Énix, Gabasa and Nuévalos. Col., Coleoptera; Hym., Hymenoptera. (b) Percentage of bee species that are connectors out of the total number of connectors.

***Rhodanthidium sticticum* in the networks**

In Énix and Nuévalos, *R. sticticum* was the visitor with links to most plant species (12 of 29 and nine of 16 species, respectively), followed by *A. mellifera* (nine of 29 and seven of 16, respectively) (**Table S1b, S1d**). In Buendía, *R. sticticum* also visited the highest number of plant species (seven of 18 species) but, in this case, the next most linked species were two species of beetles (both visiting six of 18 species) (**Table S1a**). *Apis mellifera* had fewer links (two of 18). In Gabasa, *R. sticticum* was more specialised with links to only three species of 22 (**Table S1c**). In terms of total number of visits, *A. mellifera* was the species that performed the highest number of visits in Énix and Nuévalos, followed by *R. sticticum*. In Buendía, three bees, a wasp and a beetle were responsible of more visits than *R. sticticum*. In Gabasa, 21 pollinator species performed more visits to flowers than *R. sticticum* (**Table S1a-S1d**).

Table 2. Role of Anthidiini in Spanish networks. Connectors are indicated with an asterisc (*); in bold, *Rhodanthidium* species. The species are named according to the identification in the corresponding reference.

Species	Links	Locality	Province	Altitude (m)	Article
<i>Rhodanthidium septemdentatum</i>*	9	Son Bosc	Mallorca	0	Tur <i>et al.</i> , 2013
<i>Rhodanthidium septemdentatum</i>	3	Puig Major	Mallorca	1.100	
<i>Anthidium manicatum</i> (Linnaeus, 1758)	1				
<i>Anthidium cingulatum</i> Latreille, 1809	1				
<i>Anthidiellum strigatum</i> (Panzer, 1805)	1	Doñana	Andalucía	10	Herrera, 1988
<i>Stelis signata</i>	1				
<i>Anthidium manicatum</i>	1	Teide N.P.	Tenerife	2.050	Dupont <i>et al.</i> , 2003
<i>Anthidium latreillei</i> Lepeletier, 1841*	3	Alcalá de	Madrid	600	
<i>Anthidium reticulatum</i> Mocsáry, 1884	3	Henares			González, 2004
<i>Anthidium latreillei</i> var. <i>rubiginosum</i> Lepeletier, 1841	2				
<i>Anthidium cingulatum</i>	1				
<i>Anthidium schulthessi</i> Friese, 1897	1				
<i>Rhodanthidium sticticum</i>*	7	Buendía	Cuenca	645	This study
<i>Anthidiellum strigatum</i>	1				
<i>Rhodanthidium septemdentatum</i>	1				
<i>Rhodanthidium sticticum</i>*	12	Énix	Andalucía	795	
<i>Anthidiellum strigatum</i>	1				
<i>Rhodanthidium sticticum</i>*	3	Gabasa	Huesca	650	
<i>Anthidiellum strigatum</i>	3				
<i>Rhodanthidium septemdentatum</i>	1				
<i>Anthidium manicatum</i>	1				
<i>Rhodanthidium sticticum</i>*	9	Nuévalos	Zaragoza	705	
<i>Anthidium manicatum</i>	2				
<i>Rhodanthidium septemdentatum</i>	2				

Table 3. Role of Anthidiini in different networks outside Spain. Connectors are indicated with an asterisc (*); in bold, *Rhodanthidium* species. The species are named according to the identification in the corresponding reference.

Species	Links	Locality	Country	Altitude (m)	Article
<i>Anthidium chubuti</i> Cockerell, 1910	3	Laguna Diamante	Argentina	3.300	Medan <i>et al.</i> , 2002
<i>Anthidium rubripes</i> Friese, 1908	1	Río Blanco		1.900	
<i>Anthidium</i> sp. 1	13	Parque	Chile	3.400	Arroyo <i>et al.</i> , 1982
<i>Stenanthidium espinosai</i> (Ruiz, 1938)	2	Cordillera			
<i>Anthidium funereum</i> Schletterer, 1890	3	Yerba Loca		2.900	
<i>Anthidium</i> sp. 1	2				
<i>Anthidium chilense</i> Spinola, 1851*	8			2.400	
<i>Anthidium</i> sp. 1	6				
<i>Anthidium gayi</i> Spinola, 1851	5				
<i>Anthidium decaspilum</i> Moure, 1957	4				
<i>Anthidium adriani</i> Ruiz, 1935	1				
<i>Rhodanthidium septemdentatum</i>*	33	Diomedous Botanical Garden,	Greece	95	Petanidou & Ellis, 1993
<i>Anthidiellum strigatum</i>	18				
<i>Icterantheidium grohmanni</i> (Spinola, 1838)	11				
<i>Anthidium florentinum</i> (Fabricius, 1775)	7	Daphni			
<i>Anthidium elongatum</i> Friese, 1897	5				
<i>Rhodanthidium caturigense</i>	2				
<i>Anthidium taeniatum</i> Latreille, 1809	2				
<i>Anthidium manicatum</i>	1				
<i>Anthidium dalmaticum</i> Mocsáry, 1884	1				
<i>Anthidium undulatum</i> Dours, 1873	1				
<i>Eoanthidium insulare</i> (Morawitz, 1874)	1				
<i>Pseudoanthidium alpinum</i> (Morawitz, 1874)	1				
<i>Pseudoanthidium lituratum</i> (Panzer, 1801)	1				
<i>Stelis punctulatissima</i> (Kirby, 1802)	1				
<i>Pseudoanthidium cribratum</i> (Morawitz, 1875)	1				
<i>Mesanthidium carduele</i> (Morawitz, 1876)	1				
<i>Anthidium septemspinosum</i> Lepeletier, 1841	3	Kyoto University	Japan		Kakutani <i>et al.</i> , 1990
<i>Anthidium tenuiflorae</i> Cockerell, 1907	1	Pikes Peak	USA	2.590	Clements & Long, 1923
<i>Anthidium</i> sp.	2	Llanos	Venezuela	74	Ramírez & Brito, 1992
<i>Anthidiellum</i> sp.	1	Altos C.			

Rhodanthidium sticticum shared modules with bee-pollinated plants and long-tongued bees. It appeared together with other connectors, but not with module hubs (for composition of the modules in the networks, see **Figure S1a-S1d**).

Network role of Anthidiini

Worldwide, bees of the tribe Anthidiini were found in 14 of 51 networks (**Table 2, 3**). Two *Rhodanthidium* species were present: *Rhodanthidium caturigense* (one network) in Greece, in a Mediterranean shrubland (**Table 2**) and *R. septemdentatum* (in three networks from Greece and Majorca, Spain, also in Mediterranean shrubland, **Table 2, 3**). *Rhodanthidium septemdentatum* was a connector in two of the three networks, whereas *Anthidium chilensis* and *A. latreillei* were also connectors in their networks from Chile and Spain, respectively. Besides, *R. septemdentatum* was also a visitor in three of the *Antirrhinum-Rhodanthidium* networks (Gabasa, Buendía and Nuévalos), but not a connector.

In the Greek network, *R. septemdentatum* was a connector. Two bees and a fly had more links than *R. septemdentatum* (33 links). In the Majorcan networks, *R. septemdentatum* behaved differently. In the network from Puig Major it did not have an important ecological role in the network, i.e. it was a peripheral species. Two beetles, a fly, and a bee had more links than *R. septemdentatum* (three links). In the network from Son Bosc, however, *R. septemdentatum* was a connector. Three beetles, a fly, a bee and an ant had more links than *R. septemdentatum* (nine links).

DISCUSSION

The unique ecological and evolutionary role of *Rhodanthidium sticticum* is probably driven by its long tongue, which gives this bee access to nectar from numerous plants. This key trait defines its topological position in the studied pollination networks. By its ability to visit many different plant species it becomes a connector between different modules. Most species act within their module, but connectors operate at a structurally higher level, because they define the relationship between modules. Their presence synchronizes the ecology of the individual modules, because all kinds of information, such as disturbance events, are transmitted to other modules through the activities of the connectors (Olesen *et al.*, 2018). Thus the more connectors, the faster and more efficient information pass among modules.

***Rhodanthidium-Antirrhinum* networks**

According to Olesen *et al.* (2007), almost 60% of all pollination networks are modular, but most are also nested. However, if network connectance gets high ($\geq 20\%$), modularity disappears, because it gets destroyed by the many links (Fortuna *et al.*, 2010). Many connectors may also destroy modularity. The four networks of this study have a low connectance ($\leq 20\%$) and should thus be expected to be both modular and nested. This was not the case. Gabasa, Buendía and Énix were very modular, but not nested. On the other hand, Nuévalos had a low modularity, but was nested. However, species-poor networks (≤ 50 species) are often not modular (Olesen *et al.*, 2007) or rephrased, they consist of only one module.

In our study, all *Antirrhinum* species were peripherals (see **Table S1a-S1d**), *i.e.* they were either very specialized plants or rare species only attracting a few visitor species. Snapdragons have a corolla clearly marked by the development of a prominent palate (personate flower) that occludes the entrance of the corolla tube, which results in a floral filtering morphology to pollinators (Guzmán *et al.*, 2015). If such peripheral species live in a nested network, they link to generalized flower visitors, *i.e.* to *Rhodanthidium*. Indeed, *R. sticticum* does not only visit *Antirrhinum* species, as it is a generalist (Vargas *et al.*, 2010). It has been hypothesised that bees as a whole act as generalist pollinators within specialised systems such as that of snapdragons and relatives (Guzmán *et al.*, 2017). Other visitor species in the studied networks, like *Colletes albomaculatus* in Buendía, *Andrena boyerella* in Gabasa or *Hoplitis adunca* in Buendía and Gabasa, are among the highest-scoring visitors (**Table S1a-S1d**), but visiting only one or two plant species, reinforcing the idea that specialists specialize on generalist, no matter if plant or pollinator.

***Rhodanthidium sticticum* in pollination networks**

This is one of the first studies analyzing functional roles of particular bee species, except for the Centridini oil bees that have also been studied in detail (Mello *et al.*, 2013). *Rhodanthidium sticticum* was a connector in three of the four analysed networks, and a network hub in the last one. It is also the second most important visitor in terms of number of visits in two of the networks (Énix and Nuévalos), after *A. mellifera*, and the fourth in Buendía, not counting specialists like *Colletes albomaculatus*, *Heriades crenulatus* and *Hoplitis adunca* (see **Table S1a-S1d**). Generalists like *R. sticticum* are keystone species for the

networks (González *et al.*, 2009) and, as shown here, *R. sticticum* is the visitor that interacts with more plants in three of the four networks. As a connector, it links different modules, being essential for the structure and operation of the community (Olesen *et al.*, 2007). In these cases, *R. sticticum* is a generalist and a connector, but this is not always the case. A generalist could be, then, a peripheral, depending on the network structure and composition.

The role of *R. sticticum* to the survival of species of Antirrhineae has already been assessed, but not at a community level. *Rhodanthidium sticticum* is a key species in the pollination of five *Antirrhinum* species, including two endangered ones (Vargas *et al.*, 2017). It is also a key species to the survival of four endangered and endemic *Linaria* taxa from the Iberian Peninsula (Blanco-Pastor *et al.*, 2015). These species, besides being self-incompatible (Blanco-Pastor & Vargas, 2013) and, therefore, in need of cross-pollination, have an occluded corolla. In spite of this, they achieve high fecundity and viability of their seeds due to the effectiveness of *R. sticticum* (Vargas *et al.*, 2010).

Aparently, the majority of plant species pollinated by *R. sticticum* does not seem to be pollinator-limited with respect to number of pollinator species (with the exception of the *Linaria* and *Antirrhinum* species), but perhaps with respect to total pollinator abundance. On a local scale, *R. sticticum* is one of the most abundant species, even being the most abundant long-tongued bee in the entire bee community (Torné-Noguera *et al.*, 2014). Thus, for the moment, its functional and topological role as a connector in Mediterranean communities appears to be stable.

Anthidiini and *Rhodanthidium* in other networks

Bees of the Anthidiini were part of 14 of the 51 studied networks in Olesen *et al.* (2007), all but one from temperate areas, and two *Anthidium* species (*A. chilensis* and *A. latreillei*) were connectors in their respective communities (**Table 2, 3**). All other potential connector bee species belonging to different tribes of the Megachilidae or other families were not considered here. *R. septemdentatum* was a connector in two Mediterranean networks, one from continental Greece and one from the island of Majorca (Spain). However, if it co-occurred with *R. sticticum*, *R. septemdentatum* lost its ecological role (in Gabasa, Buendía and Nuévalos networks). The only available study of the abundances of *R. septemdentatum* and *R. sticticum* shows that the abundance of the first is eight times lower than the

abundance of *R. sticticum* (Torné-Noguera *et al.*, 2014), which could explain how, when both species coexist in the same network, one outnumbers the other and displaces its ecological role.

The biology and, particularly, the behaviour of *R. sticticum* are very similar to those of many other Anthidiini (especially within the genera *Anthidium* and *Rhodanthidium*) in terms of flight ability, territoriality, sociality and flower visitation (Severinghaus *et al.*, 1981; García-González & Ornos, 1999; Michener, 2007). This makes the species a good representative of the group, allowing us to generalize from species to tribus. As it occurs with *A. latreillei* and *A. chilensis*, other *Anthidium* could be ecologically relevant in their networks, connecting different modules.

CONCLUSIONS

As a connector and a generalist, *Rhodanthidium sticticum* is the most ecologically important solitary bee for the studied plant communities. Due to its relevance for some snapdragons and other endangered Antirrhineae, *R. sticticum* should be taken into account in conservation plans for these plants. *Rhodanthidium septemdentatum* is also an ecologically valuable species in other Mediterranean networks, but apparently this is not the case, when it occurs together with *R. sticticum*. Species belonging to the *Anthidium* genus also have ecologically relevant roles in some temperate networks, thus making the Anthidiini tribe (especially the *Rhodanthidium* and *Anthidium* genera) noteworthy for future pollination networks studies. Research in pollination networks should pay more attention to the role of these and other solitary bees, due to their importance for the structure of the network and the survival of plant species in the entire community. Thus protecting particular species in the networks (connectors and hubs, plants and pollinators alike) might have high conservation value to entire ecosystems. Conservation plans at community level should, as a minimum, consider network-relevant species in order to protect the diversity of interactions and processes that keep a high functionality of their ecosystems.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1. (a) Species, author, year, number of links, c, z and role of the species in the Buendía (Guadalajara) network.

Species	Author, year	Links	Visits	c	z	Ecological role
<i>Ruta angustifolia</i>	L.	16	457	0.63	2.80	network hub
<i>Isatis tinctoria</i>	L.	16	233	0.55	3.39	module hub
<i>Helichrysum stoechas</i>	(L.) Moench	14	327	0.56	3.25	module hub
<i>Reseda lutea</i>	L.	8	540	0.00	2.39	peripheral
<i>Echium vulgare</i>	L.	7	711	0.45	2.29	peripheral
<i>Rhodanthidium sticticum</i>	(Fabricius, 1787)	7	138	0.78	0.30	connector
<i>Heliotaurus ruficollis</i>	(Fabricius, 1781)	6	294	0.67	0.29	connector
<i>Coronilla minima</i>	L.	6	275	0.44	2.12	peripheral
<i>Sideritis tragoriganum</i>	L.	6	169	0.61	0.33	peripheral
<i>Phlomis lychnitis</i>	L.	6	156	0.50	2.06	peripheral
<i>Rosa canina</i>	L.	6	69	0.00	1.64	peripheral
<i>Euphorbia segetalis</i>	L.	6	62	0.00	1.55	peripheral
<i>Barbarea vulgaris</i>	R. Br. in W.T. Aiton	6	61	0.50	1.57	peripheral
<i>Trichodes leucopsideus</i>	(Olivier, 1795)	6	54	0.67	0.29	connector
<i>Psilothrix</i> sp.	Redtenbacher, 1858	5	70	0.56	0.40	peripheral
<i>Bituminaria bituminosa</i>	(L.) C.H. Stirt.	5	69	0.72	-0.07	connector
<i>Ancistrocerus renimacula</i>	Lepeletier, 1841	4	212	0.63	-0.10	connector
<i>Sideritis hirsuta</i>	L.	4	194	0.38	1.06	peripheral
<i>Bombus terrestris</i>	(Linnaeus, 1758)	4	172	0.75	-0.60	connector
<i>Salvia verbenaca</i>	Pers.	4	138	0.00	2.11	peripheral
<i>Satyrium spini</i>	(Denis & Schiffermüller, 1775)	4	95	0.63	-0.07	connector
<i>Allium sphaerocephalon</i>	L.	4	85	0.63	0.00	connector
<i>Anthemis arvensis</i>	L.	4	83	0.38	0.40	peripheral
<i>Medicago sativa</i>	L.	4	82	0.38	1.15	peripheral
<i>Acmaeodera cylindrica</i>	(Fabricius, 1775)	4	29	0.63	-0.10	connector
<i>Megachile rotundata</i>	(Fabricius, 1787)	3	117	0.44	0.00	peripheral
<i>Pyronia bathseba</i>	(Fabricius, 1793)	3	87	0.44	0.00	peripheral
<i>Ceratina cucurbitina</i>	(Rossi, 1792)	3	56	0.67	-0.69	connector
<i>Aricia cramera</i>	Eschscholtz, 1821	3	49	0.44	0.00	peripheral
<i>Anthrenus pimpinellae</i>	(Fabricius, 1775)	3	24	0.44	-0.10	peripheral
<i>Oedemera flavipes</i>	(Fabricius, 1792)	3	21	0.44	-0.13	peripheral
<i>Hoplitis adunca</i>	(Panzer, 1798)	2	344	0.50	-0.60	peripheral
<i>Chalicodoma pyrenaica</i>	(Lepeletier, 1841)	2	129	0.50	-0.69	peripheral
<i>Lasioglossum subhirtum</i>	(Lepeletier, 1841)	2	110	0.00	-0.13	peripheral
<i>Megachile melanogaster</i>	Eversmann, 1852	2	86	0.50	-0.57	peripheral
<i>Hylaeus punctulatus</i>	Smith, 1842	2	81	0.50	-0.57	peripheral
<i>Lomatia tysiphone</i>	Loew in Schiner, 1860	2	74	0.00	-0.07	peripheral
<i>Chalicodoma lefebvrei</i>	(Lepeletier, 1841)	2	72	0.50	-0.69	peripheral
<i>Osmia aurulenta</i>	Panzer, 1799	2	61	0.00	0.23	peripheral
<i>Apis mellifera</i>	Linnaeus, 1758	2	58	0.00	-0.10	peripheral
<i>Rhodanthidium septemdentatum</i>	(Latreille, 1809)	2	52	0.50	-0.69	peripheral
<i>Hylaeus communis</i>	Nylander, 1852	2	41	0.00	0.14	peripheral
<i>Osmia cornuta</i>	(Latreille, 1805)	2	32	0.50	-0.57	peripheral
<i>Stenopterus rufus</i>	Linnaeus, 1767	2	21	0.50	-0.55	peripheral
<i>Sphaerophoria rueppelli</i>	(Wiedemann, 1830)	2	6	0.00	-0.10	peripheral
<i>Heriades crenulatus</i>	Nylander, 1856	1	311	0.00	-0.57	peripheral
<i>Colletes albomaculatus</i>	(Lucas, 1849)	1	161	0.00	-0.54	peripheral
<i>Andrena flavipes</i>	Panzer, 1799	1	83	0.00	-0.54	peripheral
<i>Bombus pascuorum</i>	(Scopoli, 1763)	1	57	0.00	-0.60	peripheral
<i>Andrena fabrella</i>	Perez, 1903	1	57	0.00	-0.54	peripheral

<i>Andrena ovatula</i>	(Kirby, 1802)	1	48	0.00	-0.54	peripheral
<i>Megachile analis</i>	Nylander, 1852	1	42	0.00	-1.06	peripheral
<i>Andrena humilis</i>	Latreille, 1809	1	37	0.00	-0.54	peripheral
<i>Hylaeus cornutus</i>	Curtis, 1831	1	34	0.00	-0.54	peripheral
<i>Andrena lagopus</i>	Lag.	1	33	0.00	-0.54	peripheral
<i>Hylaeus imparilis</i>	Foerster, 1871	1	26	0.00	-0.54	peripheral
<i>Andrena nana</i>	(Kirby, 1802)	1	23	0.00	-0.54	peripheral
<i>Megachile apicalis</i>	Spinola, 1808	1	22	0.00	-1.06	peripheral
<i>Polistes dominula</i>	(Christ, 1791)	1	20	0.00	-0.54	peripheral
<i>Chrysura cuprea</i>	(Rossi, 1790)	1	19	0.00	-0.54	peripheral
<i>Antirrhinum microphyllum</i>	Rothm.	1	18	0.00	-0.60	peripheral
<i>Certallum ebulinum</i>	(Linnaeus, 1767)	1	18	0.00	-0.57	peripheral
Bombyliidae sp.	Latreille, 1802	1	12	0.00	-0.54	peripheral
<i>Ceratina mocsaryi</i>	Friese, 1896	1	11	0.00	-0.54	peripheral
<i>Thyreus affinis</i>	(Morawitz, 1874)	1	8	0.00	-0.55	peripheral
<i>Osmia brevicornis</i>	(Fabricius, 1798)	1	7	0.00	-1.06	peripheral
<i>Anthidiellum strigatum</i>	(Panzer, 1805)	1	6	0.00	-0.69	peripheral
<i>Tychius</i> sp.	Germar, 1817	1	6	0.00	-0.57	peripheral
<i>Camponotus cruentatus</i>	(Latreille, 1802)	1	6	0.00	-0.54	peripheral
<i>Chlorophorus trifasciatus</i>	(Fabricius, 1781)	1	6	0.00	-0.54	peripheral
<i>Anthophora atroalba</i>	Lepeletier, 1841	1	4	0.00	-0.57	peripheral
<i>Drymeia hamata</i>	(Fallen, 1823)	1	4	0.00	-0.55	peripheral
<i>Oxythyrea funesta</i>	(Poda, 1761)	1	4	0.00	-0.55	peripheral
<i>Spermophagus</i> sp.	Schoenherr, 1833	1	4	0.00	-0.55	peripheral
<i>Chrysis</i> sp.	Linnaeus, 1767	1	2	0.00	-0.54	peripheral
<i>Melanargia galatea</i>	(Linnaeus, 1758)	1	2	0.00	-0.54	peripheral
<i>Rhagonycha fulva</i>	(Scopoli, 1763)	1	2	0.00	-0.54	peripheral
<i>Clytus arietis</i>	(Linnaeus, 1758)	1	1	0.00	-0.55	peripheral
<i>Macroglossum stellatarum</i>	(Linnaeus, 1758)	1	1	0.00	-0.55	peripheral
<i>Ichneumon</i> sp.	(Linnaeus, 1758)	1	1	0.00	-0.54	peripheral
<i>Polistes gallicus</i>	(Linnaeus, 1761)	1	1	0.00	-0.54	peripheral
<i>Vespula germanica</i>	(Fabricius, 1793)	1	1	0.00	-0.54	peripheral
<i>Pompilus cinereus</i>	(Fabricius, 1775)	1	1	0.00	-0.54	peripheral

Table S1. (b) Species, author, year, number of links, c, z and role of the species in the Énix (Almería) network.

Species	Author, year	Links	Visits	c	z	Ecological role
<i>Rhodanthidium sticticum</i>	(Fabricius, 1787)	12	88	0.67	2.71	network hub
<i>Apis mellifera</i>	Linnaeus, 1758	9	119	0.64	1.57	connector
<i>Anthyllis terniflora</i>	(Lag.) Pau	7	77	0.61	1.57	peripheral
<i>Lasioglossum morio</i>	(Fabricius, 1793)	6	62	0.50	2.16	peripheral
<i>Bituminaria bituminosa</i>	(L.) C.H. Stirt.	6	56	0.67	0.57	connector
<i>Anacyclus clavatus</i>	(Desf.) Pers	6	48	0.78	-0.63	connector
<i>Acmaeodera cylindrica</i>	(Fabricius, 1775)	6	14	0.67	1.58	connector
<i>Eucera codinai</i>	Dusmet y Alonso, 1926	5	80	0.56	0.52	peripheral
<i>Helichrysum stoechas</i>	(L.) Moench	5	62	0.72	0.45	connector
<i>Thymus mastichina</i>	DC.	5	49	0.32	2.00	peripheral
<i>Phlomis lychnitis</i>	L.	5	49	0.32	2.11	peripheral
<i>Helianthemum hirtum</i>	(L.) Mill.	5	32	0.72	-0.63	connector
<i>Osmia cornuta</i>	(Latreille, 1805)	5	21	0.72	0.30	connector
<i>Anthyllis cytisoides</i>	L.	4	76	0.38	0.52	peripheral
<i>Echium sabulicola</i>	Pomel	4	56	0.38	1.79	peripheral
<i>Marrubium supinum</i>	L.	4	46	0.38	0.52	peripheral
<i>Lasioglossum interruptum</i>	(Panzer, 1798)	4	39	0.38	1.79	peripheral
<i>Andryala laxiflora</i>	DC.	4	34	0.63	0.22	connector
<i>Megachile apicalis</i>	Spinola, 1808	3	39	0.44	-0.14	peripheral

<i>Lasioglossum pauperatum</i>	(Brullé, 1832)	3	39	0.44	0.45	peripheral
<i>Hoplitis adunca</i>	(Panzer, 1798)	3	36	0.67	-0.89	connector
<i>Thapsia villosa</i>	(L.) L.	3	33	0.44	-0.14	peripheral
<i>Bombylius cruciatus</i>	Fabricius, 1798	3	31	0.00	0.52	peripheral
<i>Lasioglossum fulvicorne</i>	(Kirby, 1802)	3	29	0.00	1.58	peripheral
<i>Anthirrinum mollissimum</i>	(Pau) Rothm.	3	28	0.44	-0.14	peripheral
<i>Coronilla juncea</i>	L.	3	27	0.44	-0.14	peripheral
<i>Lomatia tysiphone</i>	Loew in Schiner, 1860	3	23	0.44	-0.63	peripheral
<i>Retama sphaerocarpa</i>	L.	3	21	0.44	0.45	peripheral
<i>Santolina chamaecyparissus</i>	Pers	3	14	0.44	-0.52	peripheral
<i>Convolvulus althaeoides</i>	L.	3	13	0.67	-0.89	connector
<i>Phlomis purpurea</i>	L.	3	13	0.00	1.19	peripheral
<i>Sedum melanantherum</i>	L.	2	75	0.00	0.22	peripheral
<i>Hylaeus communis</i>	Nylander, 1852	2	28	0.50	-0.75	peripheral
<i>Lavandula multifida</i>	L.	2	25	0.00	-0.52	peripheral
<i>Ceramius fonscolombei</i>	Latreille, 1810	2	22	0.00	-0.52	peripheral
<i>Launaea lanifera</i>	Pau	2	21	0.00	-0.63	peripheral
<i>Scrophularia canina</i>	L.	2	10	0.00	-0.63	peripheral
<i>Pallenis spinosa</i>	(L.) Cass.	2	7	0.00	0.45	peripheral
<i>Pyrgus sidae</i>	(Esper, 1784)	2	5	0.50	-0.60	peripheral
<i>Anthophora atroalba</i>	Lepeletier, 1841	2	4	0.00	-0.14	peripheral
<i>Polistes dominula</i>	(Christ, 1791)	1	45	0.00	-0.50	peripheral
<i>Reseda phyteuma</i>	L.	1	25	0.00	-0.86	peripheral
<i>Ruta angustifolia</i>	(L.) Boiss.	1	19	0.00	-1.57	peripheral
<i>Hoplitis benoisti</i>	(Alfken, 1935)	1	16	0.00	-0.89	peripheral
<i>Colletes nigricans</i>	Gistel, 1857	1	11	0.00	-0.89	peripheral
<i>Ceratina cucurbitina</i>	(Rossi, 1792)	1	10	0.00	-0.50	peripheral
<i>Hylaeus sinuatus</i>	(Schenck, 1853)	1	10	0.00	-0.50	peripheral
<i>Allium sphaerocephalon</i>	L.	1	9	0.00	-0.75	peripheral
<i>Colletes abeillei</i>	Perez, 1903	1	8	0.00	-0.89	peripheral
<i>Thymelicus sylvestris</i>	(Poda, 1761)	1	6	0.00	-0.75	peripheral
<i>Andrena nana</i>	(Kirby, 1802)	1	5	0.00	-0.75	peripheral
<i>Ononis natrix</i>	L.	1	4	0.00	-0.86	peripheral
<i>Lasioglossum malachurum</i>	(Kirby, 1802)	1	4	0.00	-0.75	peripheral
<i>Anthidiellum strigatum</i>	(Panzer, 1805)	1	4	0.00	-0.50	peripheral
<i>Andrena flavipes</i>	Panzer, 1799	1	3	0.00	-0.89	peripheral
<i>Satyrium spini</i>	(Denis & Schiffermüller, 1775)	1	2	0.00	-0.60	peripheral
<i>Cistus albidus</i>	L.	1	1	0.00	-0.60	peripheral
<i>Carlina corymbosa</i>	L.	0	0	0.00	0.00	peripheral

Table S1. (c) Species, author, year, number of links, c, z and role of the species in the Gabasa (Huesca) network.

Species	Author, year	Links	Visits	c	z	Ecological role
<i>Dorycnium pentaphyllum</i>	Scop.	19	426	0.50	3.61	module hub
<i>Anthemis arvensis</i>	L.	14	165	0.46	3.38	module hub
<i>Hedysarum boveanum</i>	Bunge ex Basine	12	272	0.29	3.53	module hub
<i>Centaurea aspera</i>	L.	12	125	0.29	3.66	module hub
<i>Ruta angustifolia</i>	Pers.	9	415	0.52	2.45	peripheral
<i>Apis mellifera</i>	Linnaeus, 1758	8	228	0.78	1.46	connector
<i>Aphyllanthes monspeliensis</i>	L.	7	94	0.45	1.37	peripheral
<i>Bituminaria bituminosa</i>	(L.) C.H. Stirt.	6	72	0.44	0.85	peripheral
<i>Convolvulus cantabrica</i>	L.	6	60	0.28	1.27	peripheral
<i>Rosa canina</i>	L.	6	34	0.50	2.06	peripheral
<i>Phlomis lychnitis</i>	L.	5	132	0.00	2.44	peripheral
<i>Salvia verbenaca</i>	L.	5	103	0.32	1.67	peripheral
<i>Medicago sativa</i>	L.	5	46	0.00	1.29	peripheral

<i>Andrena flavipes</i>	Panzer, 1799	4	85	0.38	0.40	peripheral
<i>Osmia latreillei</i>	(Spinola, 1806)	4	61	0.63	-0.05	connector
<i>Stenopterus rufus</i>	Linnaeus, 1767	4	29	0.63	0.00	connector
<i>Echium vulgare</i>	L.	3	495	0.00	0.89	peripheral
<i>Sedum acre</i>	L.	3	152	0.00	1.15	peripheral
<i>Allium ampeloprasum</i>	L.	3	124	0.00	1.46	peripheral
<i>Bombus humilis</i>	Illiger, 1806	3	120	0.44	0.12	peripheral
<i>Thymelicus sylvestris</i>	(Poda, 1761)	3	95	0.67	-0.66	connector
<i>Euphorbia serrata</i>	L.	3	52	0.00	0.46	peripheral
<i>Rhodanthidium sticticum</i>	(Fabricius, 1787)	3	41	0.67	-0.81	connector
<i>Polistes dominulus</i>	(Christ, 1791)	3	37	0.44	0.00	peripheral
<i>Sphaerophoria scripta</i>	(Linnaeus, 1758)	3	27	0.44	0.23	peripheral
<i>Anthidiellum strigatum</i>	(Panzer, 1805)	3	10	0.44	-0.05	peripheral
<i>Hoplitis adunca</i>	(Panzer, 1798)	2	401	0.00	0.12	peripheral
<i>Hylaeus punctulatissimus</i>	Smith, 1842	2	74	0.50	-0.81	peripheral
<i>Lasioglossum pauperatum</i>	(Brullé, 1832)	2	43	0.50	-0.28	peripheral
<i>Eupeodes corollae</i>	(Fabricius, 1794)	2	32	0.00	0.00	peripheral
<i>Satyrium spini</i>	(Denis & Schiffermüller, 1775)	2	30	0.50	-0.28	peripheral
<i>Ancistrocerus renimacula</i>	Lepeletier, 1841	2	19	0.50	-0.41	peripheral
<i>Polyommatus icarus</i>	(Rottemburg, 1775)	2	17	0.50	-0.42	peripheral
<i>Antirrhinum molle</i>	L.	2	12	0.00	0.32	peripheral
<i>Macroglossum stellatarum</i>	(Linnaeus, 1758)	2	10	0.50	-0.69	peripheral
<i>Thricops semicinctus</i>	(Wiedemann, 1817)	2	9	0.00	1.41	peripheral
<i>Pyronia bathseba</i>	(Fabricius, 1793)	2	8	0.00	0.00	peripheral
<i>Pieris rapae</i>	(Linnaeus, 1758)	2	6	0.00	0.00	peripheral
<i>Trichodes leucopsideus</i>	(Olivier, 1795)	2	5	0.50	-0.69	peripheral
<i>Andrena boyerella</i>	Dours, 1872	1	107	0.00	-0.28	peripheral
<i>Andrena bayona</i>	Warncke, 1975	1	88	0.00	-0.69	peripheral
<i>Hylaeus clypearis</i>	(Schenck, 1853)	1	87	0.00	-0.41	peripheral
<i>Lasioglossum quadrinotatum</i>	(Kirby, 1802)	1	82	0.00	-0.66	peripheral
<i>Syneuodinerus egregius</i>	(Herrich-Schäffer, 1839)	1	75	0.00	-0.41	peripheral
<i>Hylaeus brevicornis</i>	Nylander, 1852	1	63	0.00	-0.41	peripheral
<i>Andrena nana</i>	(Kirby, 1802)	1	59	0.00	-0.69	peripheral
<i>Thymus zygis</i>	Loefl. ex L.	1	55	0.00	-0.81	peripheral
<i>Colletes nigricans</i>	Gistel, 1857	1	53	0.00	-0.28	peripheral
<i>Chelostoma rapunculi</i>	(Lepeletier, 1841)	1	53	0.00	-0.50	peripheral
<i>Ectemnius cavifrons</i>	(Thomson, 1870)	1	53	0.00	-0.41	peripheral
<i>Andrena humilis</i>	Imhoff, 1832	1	48	0.00	-0.28	peripheral
<i>Osmia aurulenta</i>	Panzer, 1799	1	47	0.00	-0.66	peripheral
<i>Chalicodoma pyrenaica</i>	(Lepeletier, 1841)	1	44	0.00	-0.50	peripheral
<i>Lasioglossum subhirtum</i>	(Lepeletier, 1841)	1	36	0.00	-0.41	peripheral
<i>Ceratina cyanea</i>	(Kirby, 1802)	1	32	0.00	-0.50	peripheral
<i>Euodynerus variegatus</i>	(Fabricius, 1793)	1	30	0.00	-0.81	peripheral
<i>Camponotus cruentatus</i>	(Latreille, 1802)	1	29	0.00	-0.46	peripheral
<i>Cylindromyia brevicornis</i>	(Loew, 1844)	1	27	0.00	-0.42	peripheral
<i>Microdynerus timidus</i>	(Saussure, 1856)	1	27	0.00	-0.28	peripheral
<i>Lomatia tysiophone</i>	Loew in Schiner, 1860	1	25	0.00	-0.42	peripheral
<i>Lasioglossum semilucens</i>	(Alfken, 1914)	1	23	0.00	-0.28	peripheral
<i>Andrena fuscipes</i>	(Kirby, 1802)	1	22	0.00	-0.50	peripheral
<i>Anthidium manicatum</i>	(Linnaeus, 1758)	1	22	0.00	-0.66	peripheral
<i>Drymeia hamata</i>	(Fallen, 1823)	1	21	0.00	-0.28	peripheral
<i>Halictus scabiosae</i>	(Rossi, 1790)	1	21	0.00	-0.46	peripheral
<i>Lasioglossum xanthopus</i>	(Kirby, 1802)	1	20	0.00	-0.46	peripheral
<i>Amegilla garrula</i>	(Rossi, 1790)	1	19	0.00	-0.66	peripheral
<i>Osmia rufohirta</i>	Latreille, 1811	1	18	0.00	-0.50	peripheral
<i>Vespula germanica</i>	(Fabricius, 1793)	1	18	0.00	-0.28	peripheral
<i>Amegilla savignyi</i>	(Lepeletier, 1841)	1	16	0.00	-0.66	peripheral

<i>Megachile apicalis</i>	Spinola, 1808	1	16	0.00	-0.46	peripheral
<i>Psilothrix viridicoerulea</i>	(Geoffroy, 1785)	1	15	0.00	-0.69	peripheral
<i>Tenthredo</i> sp.	Linnaeus, 1758	1	14	0.00	-0.46	peripheral
<i>Lasioglossum punctatissimum</i>	(Schenck, 1853)	1	13	0.00	-0.42	peripheral
<i>Ceratina mocsaryi</i>	Friese, 1896	1	12	0.00	-0.46	peripheral
<i>Andrena lagopus</i>	Latreille, 1809	1	11	0.00	-0.28	peripheral
<i>Heriades crenulatus</i>	Nylander, 1856	1	10	0.00	-0.46	peripheral
<i>Athrycia trepida</i>	(Meigen, 1824)	1	9	0.00	-0.28	peripheral
<i>Billaea adelpha</i>	(Loew, 1873)	1	8	0.00	-0.42	peripheral
<i>Halictus tetrazonius</i>	(Klug, 1817)	1	8	0.00	-0.42	peripheral
<i>Helichrysum stoechas</i>	(L.) Moench	1	8	0.00	-0.71	peripheral
<i>Lasioglossum buccale</i>	(Perez, 1903)	1	8	0.00	-0.66	peripheral
<i>Osmia cornuta</i>	(Latreille, 1805)	1	8	0.00	-0.50	peripheral
<i>Stevenia deceptor</i>	(Loew, 1847)	1	8	0.00	-0.42	peripheral
<i>Anthophora plumipes</i>	(Pallas, 1772)	1	7	0.00	-0.50	peripheral
<i>Hylaeus punctatus</i>	(Brullé, 1832)	1	7	0.00	-0.28	peripheral
<i>Gonepteryx cleopatra</i>	(Linnaeus, 1767)	1	6	0.00	-0.46	peripheral
<i>Osmia caerulea</i>	(Linnaeus, 1758)	1	6	0.00	-0.50	peripheral
<i>Acmaeodera cylindrica</i>	(Fabricius, 1775)	1	5	0.00	-0.42	peripheral
<i>Osmia cephalotes</i>	Morawitz, 1870	1	5	0.00	-0.50	peripheral
<i>Oxythya funesta</i>	(Poda, 1761)	1	5	0.00	-0.50	peripheral
<i>Gymnosoma clavatum</i>	(Rohdendorf, 1947)	1	4	0.00	-0.42	peripheral
<i>Bombiliidae</i> sp.	Latreille, 1802	1	3	0.00	-0.50	peripheral
<i>Halictus rubicundus</i>	(Christ, 1791)	1	3	0.00	-0.50	peripheral
<i>Rhodanthidium septemdentatum</i>	(Latreille, 1809)	1	3	0.00	-0.42	peripheral
<i>Zygaena</i> sp.	Fabricius, 1775	1	3	0.00	-0.46	peripheral
<i>Chalicodoma albonotata</i>	(Radoszkowski, 1886)	1	2	0.00	-0.46	peripheral
<i>Eriothrix rufomaculata</i>	(De Geer, 1776)	1	2	0.00	-0.28	peripheral
<i>Eristalis tenax</i>	(Linnaeus, 1758)	1	2	0.00	-0.42	peripheral
<i>Megachile pilicrus</i>	Morawitz, 1877	1	2	0.00	-0.46	peripheral
<i>Osmia andrenoides</i>	(Spinola, 1808)	1	2	0.00	-0.66	peripheral
<i>Lasioglossum albocinctum</i>	(Lucas, 1849)	1	1	0.00	-0.46	peripheral
<i>Linum suffruticosum</i>	L.	1	1	0.00	-0.71	peripheral
<i>Sedum album</i>	L.	0	0	0.00	0.00	peripheral
<i>Silybum marianum</i>	(L.) Gaertn.	0	0	0.00	0.00	peripheral

Table S1. (d) Species, author, year, number of links, c, z and role of the species in the Nuévalos (Zaragoza) network.

Species	Author, year	Links	Visits	c	z	Ecological role
<i>Echium plantagineum</i>	L.	13	182	0.58	2.83	module hub
<i>Rhodanthidium sticticum</i>	(Fabricius, 1787)	9	96	0.72	2.00	Connector
<i>Apis mellifera</i>	Linnaeus, 1758	7	187	0.69	0.00	Connector
<i>Medicago sativa</i>	L.	6	44	0.50	1.87	Peripheral
<i>Sisymbrium officinale</i>	(L.) Scop.	5	81	0.32	0.68	Peripheral
<i>Salvia verbenaca</i>	L.	4	78	0.38	1.79	Peripheral
<i>Thymus mastichina</i>	(L.) L.	4	40	0.63	0.00	Connector
<i>Euphorbia segetalis</i>	L.	4	35	0.38	0.15	Peripheral
<i>Reseda lutea</i>	L.	4	23	0.50	0.00	Peripheral
<i>Anthophora fulvitaris</i>	Brullé, 1832	3	70	0.44	1.00	Peripheral
<i>Antirrhinum pulverulentum</i>	Lázaro Ibiza	3	61	0.44	1.00	Peripheral
<i>Andrena flavipes</i>	Panzer, 1799	3	49	0.44	-0.39	Peripheral
<i>Thymus vulgaris</i>	L.	3	22	0.44	0.00	Peripheral
<i>Episyrphus balteatus</i>	(De Geer, 1776)	3	16	0.00	0.15	Peripheral
<i>Carduus nigrescens</i>	Vill.	3	16	0.00	1.00	Peripheral
<i>Satyrion spini</i>	(Denis & Schiffermüller, 1775)	3	9	0.00	0.94	Peripheral

<i>Oxythyrea funesta</i>	(Poda, 1761)	3	5	0.44	0.00	Peripheral
<i>Tapinoma erraticum</i>	(Latreille, 1798)	3	4	0.44	-0.39	Peripheral
<i>Andrena lagopus</i>	Latreille, 1809	2	26	0.50	-0.89	Peripheral
<i>Papaver rhoeas</i>	L.	2	22	0.50	-1.00	Peripheral
<i>Rhodanthidium septemdentatum</i>	(Latreille, 1809)	2	21	0.50	-0.89	Peripheral
<i>Osmia latreillei</i>	(Spinola, 1806)	2	15	0.00	0.45	Peripheral
<i>Phlomis lychnitis</i>	L.	2	15	0.00	0.45	Peripheral
<i>Anthidium manicatum</i>	(Linnaeus, 1758)	2	12	0.50	-0.89	Peripheral
<i>Andrena morio</i>	Brullé, 1832	2	9	0.00	-0.39	Peripheral
<i>Amegilla savignyi</i>	(Lepeletier, 1841)	2	7	0.00	-0.39	Peripheral
<i>Halictus tetrazonius</i>	(Klug, 1817)	2	4	0.00	-0.39	Peripheral
<i>Anthophora crassipes</i>	Lepeletier, 1841	1	48	0.00	-0.93	Peripheral
<i>Anthophora plumipes</i>	(Pallas, 1772)	1	16	0.00	-1.00	Peripheral
<i>Osmia ferruginea</i>	Latreille, 1811	1	13	0.00	-0.94	Peripheral
<i>Hylaeus clypearis</i>	(Schenck, 1853)	1	9	0.00	0.00	Peripheral
<i>Scabiosa atropurpurea</i>	L.	1	9	0.00	0.00	Peripheral
<i>Osmia cornuta</i>	(Latreille, 1805)	1	8	0.00	-0.93	Peripheral
<i>Linaria aeruginea</i>	(Gouan) Cav.	1	7	0.00	-1.00	Peripheral
<i>Argynnis paphia</i>	(Linnaeus, 1758)	1	5	0.00	-1.00	Peripheral
<i>Gonepteryx cleopatra</i>	(Linnaeus, 1767)	1	5	0.00	-0.94	Peripheral
<i>Anthidiellum strigatum</i>	(Panzer, 1805)	1	3	0.00	-1.00	Peripheral
<i>Santolina chamaecyparissus</i>	L.	1	2	0.00	-0.94	Peripheral
<i>Retama sphaerocarpa</i>	(L.) Boiss.	0	0	0.00	0.00	Peripheral

Table S2. Additional network structural properties in Buendía, Énix, Gabasa and Nuévalos.

Network	WC	Linkage density	WNODF	H2'	Interaction strength asymmetry	Interaction evenness	Shannon Diversity	Web asymmetry
Buendía	4.38	3.63	7.22	0.79	-0.36	0.58	4.09	-0.57
Énix	6.03	3.68	7.33	0.66	-0.07	0.62	4.21	-0.082
Gabasa	3.8	3.96	3.63	0.85	-0.51	0.56	4.13	-0.61
Nuévalos	9.3	3.53	13.32	0.57	-0.14	0.59	3.47	-0.21

Weighted connectance (WC) and weighted NODF (WNODF) are the quantitative equivalents of connectance and NODF in Table 1. Linkage density: marginal totals-weighted diversity of interactions per species. Specialization (H2'): network-wide specialization index. Interaction strength asymmetry: quantification of whether specialized species interact with generalized ones in the other level (or vice versa). Interaction evenness: quantification of how balanced the distribution of interactions is across species, based on Shannon's diversity. Web asymmetry: balance of the number of species in the two levels.

Module nº	Species	1		2			3			4		5		6				7	
		<i>Isatis tinctoria</i>	<i>Rosa canina</i>	<i>Medicago sativa</i>	<i>Phlox lychnitis</i>	<i>Ruta angustifolia</i>	<i>Antirrhinum microphyllum</i>	<i>Salvia verbenaca</i>	<i>Sideritis tragoriganum</i>	<i>Barbarea vulgaris</i>	<i>Echium vulgare</i>	<i>Euphorbia setgetalis</i>	<i>Reseda lutea</i>	<i>Allium sphaerocephalum</i>	<i>Anthemis arvensis</i>	<i>Bituminaria bituminosa</i>	<i>Helichrysum stoechas</i>	<i>Coronilla minima</i>	<i>Sideritis hirsuta</i>
1	<i>Acmaeodera cylindrica</i>	1	1							1							1		
	<i>Andrena nana</i>	1																	
	<i>Rhagocheila fulva</i>	1																	
	<i>Chrysitis sp.</i>	1																	
	<i>Andrena pingvettula</i>	1	1			1													
	<i>Hylaeus imparilis</i>	1																	
	<i>Melanargus galathea</i>	1																	
	<i>Pompilus cinereus</i>		1																
	<i>Sphaerophoria ruggelli</i>	1	1																
	<i>Stenopterus rufus</i>	1															1		
2	<i>Andrena lagopus</i>	1																	
	<i>Andrena humilis</i>	1																	
	<i>Ancistocerus reninacula</i>		1		1	1			1										
	<i>Anthidium strigatum</i>			1															
	<i>Polistes dominula</i>					1													
	<i>Polistes gallicus</i>																		
	<i>Beulbyllidae sp.</i>																		
	<i>Chalcidodoma lefebvrei</i>					1													
	<i>Hylaeus cornutus</i>																		
	<i>Osmia nuralensis</i>			1		1													
3	<i>Polistes dominula</i>																		
	<i>Rhodanthidium</i>					1	1												
	<i>Apis mellifera</i>		1						1										
	<i>Bombus pascuorum</i>			1				1											
	<i>Bombus terrestris</i>					1			1										1
	<i>Ceratina mocsaryi</i>								1										
	<i>Rhodanthidium sticticum</i>				1	1		1	1							1	1		
	<i>Anthophora atrata</i>										1								
	<i>Certhium eboli</i>									1									
4	<i>Trypoxys sp.</i>									1									
	<i>Hieracium crenulatum</i>									1									
	<i>Haplitis adonae</i>							1			1								
	<i>Hylaeus communis</i>									1	1								
	<i>Hylaeus punctulatus</i>									1	1								
	<i>Megachile melanogaster</i>									1							1		
	<i>Osmia cornuta</i>										1					1			
	<i>Andrena fabrella</i>											1							
	<i>Andrena flavipes</i>											1							
5	<i>Andrena ovalis</i>											1							
	<i>Camponotus cruentatus</i>											1							
	<i>Oedemera flavipes</i>	1				1						1							
	<i>Colletes albomaculatus</i>											1							
	<i>Chlorophorus trifasciatus</i>											1							
	<i>Chrysura caprea</i>											1							
	<i>Helictes ruficollis</i>	1			1	1						1					1		
	<i>Ichneumon sp.</i>											1							
	<i>Lasius glossus subtertius</i>					1						1							
	<i>Trichodes leucopis</i>	1										1							
6	<i>Arctia cramera</i>												1			1		1	
	<i>Cynia arietis</i>													1			1		
	<i>Psilodictis sp.</i>	1				1									1		1		
	<i>Oxythreca fumea</i>																1		
	<i>Dryocetes humilis</i>														1				
	<i>Lomatia zysiphona</i>														1				
	<i>Macroglossum stellatarum</i>																1		
	<i>Spermophagus sp.</i>																1		
	<i>Pyronia balteata</i>													1			1		1
	<i>Satyrus spini</i>								1					1			1		
7	<i>Thyrea</i>																		
	<i>Ceratina cucurbitina</i>			1								1							1
	<i>Chalcidodoma pyrenica</i>					1												1	
	<i>Megachile analis</i>																	1	1
	<i>Megachile rotundata</i>	1																1	1

Figure S1. (a) Module composition in Buendía.

Module nº	Species	1					2			3		4		5					6			Carabus coriaceus
		<i>Isatis tinctoria</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>	<i>Andrena fucifrons</i>			
1	<i>Andrena fucifrons</i>	1	1	1	1	1																
	<i>Andrena fucifrons</i>	1	1	1	1	1																
	<i>Andrena fucifrons</i>	1	1	1	1	1																
	<i>Andrena fucifrons</i>	1	1	1	1	1																
	<i>Andrena fucifrons</i>	1	1	1	1	1																
2	<i>Andrena fucifrons</i>						1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	<i>Andrena fucifrons</i>						1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	<i>Andrena fucifrons</i>						1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	<i>Andrena fucifrons</i>						1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
	<i>Andrena fucifrons</i>						1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			
3	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
4	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
5	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
6	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
7	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					
	<i>Andrena fucifrons</i>																					

[illegible]

Figure S1. (c) Module composition in Gabasa.

Module n°		1		2		3			4	5		6			7		
	Species	<i>Echin plantaginum</i>	<i>Euphorbia scgatali</i>	<i>Stombrum officinale</i>	<i>Anthriscum pulchellum</i>	<i>Papaver rhoeas</i>	<i>Cardus nigrescens</i>	<i>Ruscus latius</i>	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Lineria serotina</i>	<i>Scabiosa atropurpurea</i>	<i>Sabzia verbenacea</i>	<i>Phloxia lychnitis</i>	<i>Medicago sativa</i>	<i>Sambucus chamaecyparissus</i>	<i>Thymus hauridius</i>	<i>Rumex sparsocarpus</i>
1	<i>Helian tetraconus</i>	1															
	<i>Auregilla sanguis</i>			1													
	<i>Andrena flavipes</i>	1		1				1									
	<i>Andrena morio</i>			1													
	<i>Anthophora crassipes</i>	1															
	<i>Epixyris balcanicus</i>	1	1	1													
	<i>Osmia cornuta</i>	1															
2	<i>Euphonia eraticum</i>		1					1									
	<i>Anthophora fulvicornis</i>				1	1											
	<i>Anthophora plumipes</i>				1												
3	<i>Argemone papilio</i>						1										
	<i>Oxycera lineatus</i>						1	1	1								
	<i>Rhodanthidium sticticum</i>	1			1		1	1	1	1		1	1	1		1	
4	<i>Anthidium strigatum</i>								1								
	<i>Hylaeus clypeatus</i>										1						
5	<i>Andrena lagopus</i>											1					
	<i>Anthidium manicatum</i>											1	1	1			
	<i>Rhodanthidium</i>											1				1	
	<i>Osmia taraxaci</i>											1					
	<i>Apis mellifera</i>								1				1				
6	<i>Geopercus cleopatra</i>	1	1	1		1			1				1	1	1	1	
	<i>Osmia ferruginea</i>												1				
	<i>Stenobothrus sticticus</i>													1			

Figure S1. (d) Module composition in Nuévalos.

CAPÍTULO 5

Biología de la abeja roja de los caracoles, *Rhodanthidium sticticum* (Fabricius, 1787): un Anthidiini con carácter.



Basado en el siguiente artículo: Romero, D., Vargas, P. & Ornos, C. Biology of the red snail-nesting bee, *Rhodanthidium sticticum* (Fabricius, 1787): an Anthidiini with personality. Enviado a *Graellsia*.

RESUMEN

La biología de la mayoría de las especies de abejas (fenología, comportamiento solitario o social, apareamiento, nidificación, especialización en plantas) no ha sido descrita en profundidad, más allá de unas pocas especies sociales, como la abeja de la miel o algunos abejorros del género *Bombus*. Tal es el caso de la abeja roja de los caracoles, *Rhodanthidium sticticum* (Hymenoptera, Megachilidae), que es una especie solitaria, mediterránea y territorial cuya biología se conoce muy someramente. A partir de observaciones de campo propias, se describen aquí su fenología, el uso que hace de conchas de Gasterópodos más allá de la nidificación, la polilectia, las plantas que visita, su capacidad de vuelo y su comportamiento territorial y de apareamiento. La biología de *R. sticticum* es parecida a la de otros Anthidiini, pero con particularidades. Es una especie primaveral, univoltina, muy activa en días secos y soleados durante las horas centrales. Cuando las condiciones climatológicas son adversas, se refugia en el interior de conchas de caracol vacías compartiendo, en ocasiones, varios individuos un mismo refugio (de la misma especie o de distintas especies de abejas). Por otro lado, a pesar de ser claramente poliléctica, muestra preferencia por plantas con flores melitófilas, en especial del género *Antirrhinum*, y los machos defienden sus territorios contra otros machos conespecíficos y contra individuos de otras especies, con un comportamiento dirigido a asegurar su propio éxito reproductivo. Las hembras, por su parte, pasan la mayor parte del tiempo pecoreando y, en general, son reacias a la cópula.

ABSTRACT

Biological aspects of most bees (phenology, solitary or social behaviour, mating, territoriality, nesting and plant specialization) are still poorly known, except for a few social species (honeybees, bumblebees). That is the case of the red snail-nesting bee, *Rhodanthidium sticticum* (Fabricius, 1787) (Hymenoptera, Megachilidae), a Mediterranean, solitary and territorial species cursory described. Here, we describe its phenology, use of snail shells other than for nesting, plant visitation and polylecty, flight ability, territoriality and mating. These results are based on our own field observations. The biology of *R. sticticum* is similar to that of other Anthidiini. It is a spring species, univoltine, and active during dry and sunny days in the central hours of the day. During adverse weather it can be found sheltering inside empty snail shells, including several individual sharing the same shell. Despite its polylecty, it shows preference for melittophilous plants, especially species from the genus *Antirrhinum*. On one hand, males defend their territories against other conspecific males and individuals of other species, as a way of ensuring their own reproductive success. On the other hand, females spend most of their time foraging on the flowers and they are usually reluctant to the copula.

INTRODUCTION

Bees (Hymenoptera, Apoidea) are widely known for their predominant role in pollination of wild plants and crops. Besides collecting pollen and nectar, bees display an incredible array of behaviour patterns regarding sociality, mating, territoriality, nesting and plant specialization (Michener, 2007). Although there is an international claim for conservation of bees, the biology of many species is largely unknown, which is a crucial aspect to assess conservation status, to develop protection and conservation plans and to ensure and improve crop pollination, among others.

The red snail-nesting bee, *Rhodanthidium sticticum* (Fabricius, 1787) (Hymenoptera, Megachilidae), is a Mediterranean solitary bee species (Ornosa *et al.*, 2008), best known for its striking red colour and its nesting behaviour inside empty snail shells that are also used for sheltering (Romero *et al.*, 2020a). The use of Gastropod shells by bees has mostly been described for nesting, but very rarely for sheltering which is exclusive to the family Megachilidae (Pasteels, 1977; Gess & Gess, 1999, 2008; Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Müller *et al.*, 2008; Kuhlmann *et al.*, 2011; Müller & Mauss, 2016). Shells offer protection against different meteorological agents, such as rain, extreme temperatures or dessication (Moreno-Rueda *et al.*, 2008) and provide the perfect hiding for the larvae. Besides *R. sticticum*, three species of *Rhodanthidium* (*R. infuscatum* (Erichson, 1835), *R. septemdentatum* (Latreille, 1809) and *R. siculum* (Spinola, 1838)) build their nests inside snail shells (Pasteels, 1977; Erbar & Leins, 2017). As they are obliged shell-nesters (Bosch *et al.*, 1993), the presence of empty shells and the distribution of suitable Gastropod species influence the distribution of the *Rhodanthidium* bees themselves (Romero *et al.*, 2020a). Indeed, retraction or expansion of snail ranges affects that of the snail-nesting *Rhodanthidium* species (Bogusch *et al.*, 2020).

Another characteristic of *R. sticticum* is its territorial behaviour. The defence of a resourceful territory to get access to females is known as “resource defence polygyny” (Emlen & Oring, 1977) and it has been widely described in Anthidiini: *Anthidiellum notatum* (Latreille, 1809) (Turell, 1976), *A. perplexum* (Smith, 1854) (Turell, 1976), *Anthidium banningense* Cockerell, 1904 (Jaycox, 1967), *A. florentinum* (Fabricius, 1775) (Batra, 1978; Wirtz *et al.*, 1992; García-González & Ornosa, 1999), *Anthidium illustre* Cresson, 1879 (Alcock, 1977), *A. maculosum* Cresson, 1878 (Alcock *et al.*, 1977), *A. manicatum* (Linnaeus,

1758) (Severinghaus *et al.*, 1981; Wirtz *et al.*, 1988; Wirtz *et al.*, 1992; Payne *et al.*, 2011), *A. palliventris* Cresson, 1878 (Villalobos & Shelly, 1991), *A. palmarum* Cockerell, 1904 (Wainwright, 1978), *A. porterae* Cockerell, 1900 (Villalobos & Shelly, 1991), *A. septemspinosum* Lepeletier, 1841 (Sugiura, 1991), *R. septemdentatum* (Nachtigall, 1997a, 1997b) and *R. siculum* (Erbar & Leins, 2017). Among these, different resources are defended and the degree of aggressiveness varies. However, in *R. sticticum* this aspect has only been mentioned, but not described in detail (Torres *et al.*, 2003; Vargas *et al.*, 2010). For males, the main point of territoriality is to keep attractive land patches to females that feed on and collect nectar and pollen; thus, the driver of territoriality is mating. However, there are no descriptions of *R. sticticum* reproductive behaviour, unlike the descriptions of the species indicated earlier.

Finally, from an ecological point of view, some authors agree about *R. sticticum* polylecty and its importance as a generalist bee (Bosch *et al.*, 1993; Müller, 1996; Aguib *et al.*, 2010; Torné-Noguera *et al.*, 2014; Blanco-Pastor *et al.*, 2015; Vargas *et al.*, 2017), but they give little information about the plant species visited in Mediterranean ecosystems. Furthermore, it is a crucial species for the reproduction of a number of endemic and endangered Mediterranean plants (Fernández-Mazuecos *et al.*, 2013; Agulló *et al.*, 2015; Blanco-Pastor *et al.*, 2015; Vargas *et al.*, 2017; Schurr *et al.*, 2019). Polylecty is widespread among the Anthidiini (Müller, 1996; Gonzalez & Griswold, 2013); however, Müller (1996) stated that two *Rhodanthidium* species are oligolectic (*R. aculeatum* and *R. superbum*). Another species, *R. caturigense*, is polylectic with a strong preference for Papilionoideae (family Papilionaceae) and the rest of species, including *R. sticticum*, would be polylectic (Müller, 1996). Indeed, a recent study showed that *R. sticticum* plays an important role as a connector in pollination networks in Mediterranean communities (Romero *et al.*, 2020b).

Our working hypothesis is that behaviour patterns of *R. sticticum* and other aspects of its biology are similar to those of other related Anthidiini, particularly other species of the genus *Rhodanthidium*. Our aim is to shed light on those aspects of *R. sticticum* biology that are poorly known: phenology, use of snail shells as shelters, plant visitation and polylecty, flight ability, territoriality and mating of the red snail-nesting bee.

MATERIAL AND METHODS

Phenology and use of shells

During the springs of 2014-2018, from the beginning of March (occasionally, from February) to the end of June, field surveys were undertaken. During field surveys, temperature, clouds coverage, wind strength, time of the day and collection data were recorded. The presence of *R. sticticum* was assessed visually or by capturing individuals on the flight or inside snail shells. Each collected shell was stored in an individual bag, to maintain the bees coming out from different shells separated.

Visited plants

Four main localities of the Iberian Peninsula were chosen to assess feeding plants: Gabasa, Huesca (42.007153°, 0.416735°); Buendía, Guadalajara (40.394967°, -2.791320°); Énix, Almería (36.877929°, -2.609264°) and Nuévalos, Zaragoza (41.213594°, -1.791900°). They were chosen based on previous studies (Vargas *et al.*, 2017). Observation of interactions at these four locations was performed in May and June, in 2017 and 2018, during the flowering peak of most plant species. Flower interaction took place during the diurnal period of flower visitor activity (from 10:00 to 17:00 h). Sampling followed nonlinear transects, covering all different plant species that were on bloom within the area. The surveys were done by direct observation. An interaction was considered when *R. sticticum* touched the flower reproductive parts, but not when it only landed on the flowers (see Vargas *et al.*, 2010). To identify the plant species, samples of all the visited plants were collected. Data about plant species visited by *R. sticticum* was also collected from bibliography (Bosch *et al.*, 1993; Torres *et al.*, 2001, 2002; Escudero *et al.*, 2003; Aguib *et al.*, 2010; Vargas *et al.*, 2010, 2013, 2017; Carrió & Güemes, 2013; Fernández-Mazuecos *et al.*, 2013; Blanco-Pastor *et al.*, 2015; Schurr *et al.*, 2019), in addition to personal communications (Jordi Bosch).

Flight ability, territoriality and mating

The behaviour patterns of both males and females of *R. sticticum* were observed and recorded during May of 2016 and 2017 in Buendía (Guadalajara) in patches of *Antirrhinum microphyllum* Rothm. in order to collect data of its flight ability, territoriality, mating and general behaviour.

RESULTS

Phenology

Regarding *R. sticticum* life cycle, 66 observations were accomplished in different locations, under different weather conditions, days and day times, between 2014 and 2019. The earliest that an individual of *Rhodanthidium sticticum* was found was the 8th of February in La Breña Natural Park (Cádiz) and the latest, the 17th of June in Nuévalos (Zaragoza). Most of individuals were observed or collected between mid March and the end of May (85% of the records, **Fig. 1**).

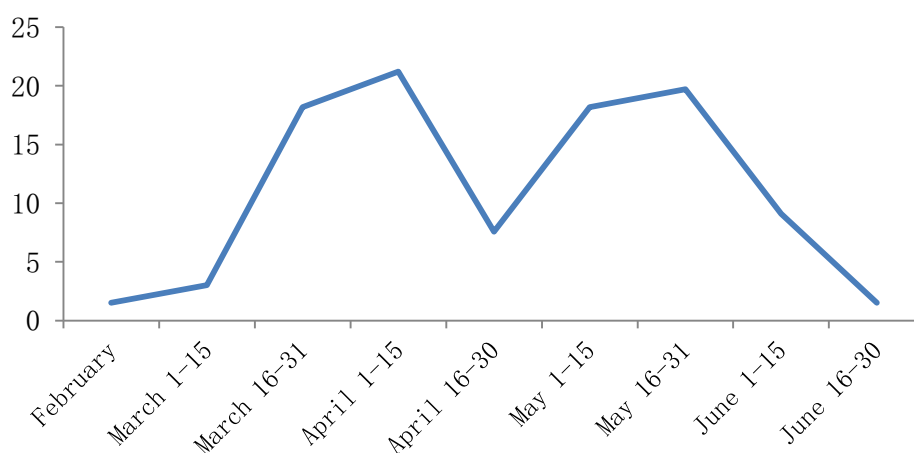


Figure 1. Percentage of *R. sticticum* observations per fortnight, from February until July.

Almost 70% of the records were obtained during sunny days (**Fig. 2a**). 75% of the observations were made during days without wind (**Fig. 2b**). 71% of the records were observed under temperatures between 20 and 30 degrees Celsius (**Fig. 2c**). In 66% of the observations, more than five different individuals were recorded.

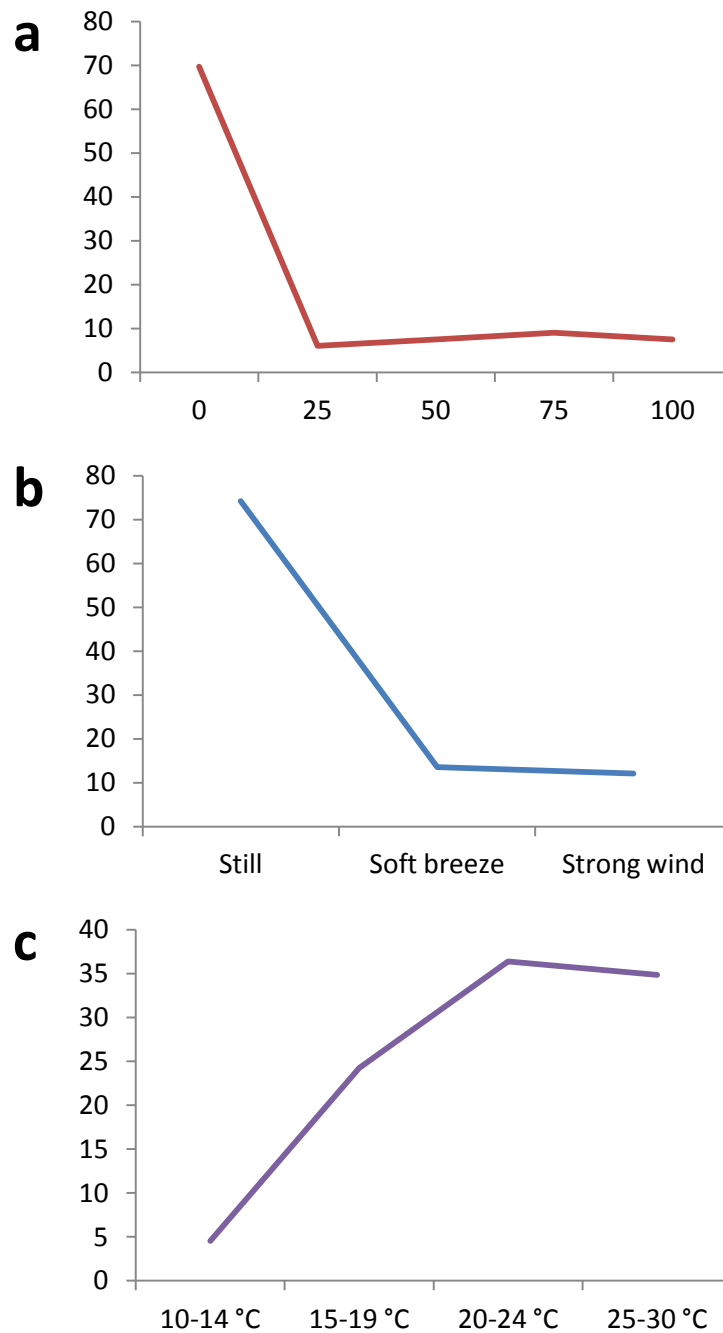


Figure 2. (a) Percentage of observations, in flight, under different levels of clouds in the sky (from completely clear to completely covered skies). (b) Percentage of observations, in flight, under different levels of wind. (c) Percentage of observations, in flight, under different temperature ranges.

Use of snail shells

Of a total of 196 collected individuals, 63% were males and 37%, females. 56% were captured flying or visiting flowers and 44% were captured inside snail shells, i.e. 86 individuals were collected in 60 shells. For the individuals captured or observed on the flight, the conditions were sunny and warm, and they were recorded during the central hours of

the day. Most of the captures inside snail shells took place in cold, rainy and windy days, or at late afternoon.

Concerning the individuals of *R. sticticum* found inside shells, 70% did not share the shell with any other bees, 13% of the shells had two individuals, 8% of the shells three had individuals and one shell had six individuals (**Table 1**). Two shells were shared by an individual of *Rhodanthidium sticticum* and another bee of the genus *Osmia* Panzer, 1806 and two other shells were occupied by an individual of *Rhodanthidium sticticum* and an individual of *Rhodanthidium siculum* (**Table 2**). Of the 18 shells shared by two or more bees, only three were occupied by females, each of them shared by a female and a male of *Rhodanthidium sticticum*. All the other females collected in snail shells were alone in the shell (86% of females collected in shells) (**Table 1**).

Table 1. Number of *R. sticticum* individuals found sheltering inside snail shells. Distribution of males and females of *R. sticticum* in shells.

Nº bees in a shell	Nº shells	%
1	42	70
2	8	13.33
3	5	8.33
6	1	1.67
+ other species	4	6.67
Bees per shell	Nº shells	%
1♂	23	38.33
1♀	19	31.67
2♀♀	0	0
2♂♂	5	8.33
1♂1♀	3	5
3♂♂	5	8.33
6♂♂	1	1.67
1♂1♂ <i>R. siculum</i>	2	3.33
1♂1 <i>Osmia</i> sp.	2	3.33

Identification of plant species visited by *Rhodanthidium sticticum*

Our field surveys showed a high diversity of plants on which *R. sticticum* feeds (**Table S1**). In particular, 43 species and 13 families of flowering plants from NE, C and SE of the Iberian Peninsula were identified. Among them, Papilionaceae (8 spp.), Lamiaceae (12 spp.) and

Plantaginaceae (5 spp., all of them Antirrhineae) were the most frequently visited (**Table S1**). From literature, 38 more species of 14 families were retrieved (**Table S2**). Therefore, polylecty appeared to be predominant in *R. sticticum* diet.

Table 2. Localities where *R. sticticum* individuals were found sharing shells. Disposition of bees inside the shells.

Locality	Province	Country	Shared shells	
Castro Marím	Algarve	Portugal	2♂♂	3♂♂
			1♂1♀	1♂1 <i>Osmia</i> sp.
			1♂1♂ <i>R. siculum</i>	1♂1♂ <i>R. siculum</i>
La Herradura	Granada	Spain	2♂♂	
Espiel	Córdoba		2♂♂	2♂♂
			2♂♂	3♂♂
			1♂1 <i>Osmia</i> sp.	
Tibi	Alicante		3♂♂	
Chelva	Valencia	1♂1♀	3♂♂	
Cuenca	Cuenca	6♂♂	3♂♂	
		1♂1♀		

Flight ability, territoriality and mating

The observations made showed that flight of both, males and females, was fast and precise, with the ability of stationary flight very well developed. Males spent most of the time patrolling their territories (around 75% of the time), looking for females (**Fig. 3**) or resting on nearby rocks and branches, usually promontories where they could warm up on the sun while they watch their territory. From time to time, they visited the flowers in their territory to feed on nectar, but they did it less often than patrolling for females. *Rhodanthidium sticticum* males also performed exploratory flights when an unknown object entered their territory (a bag or a camera, for example), during which they remained in static flight in front of the object, observing it directly. Females spent their time looking for suitable shells for nesting, building the nest, feeding on nectar and collecting pollen for their offspring (**Fig. 4**).

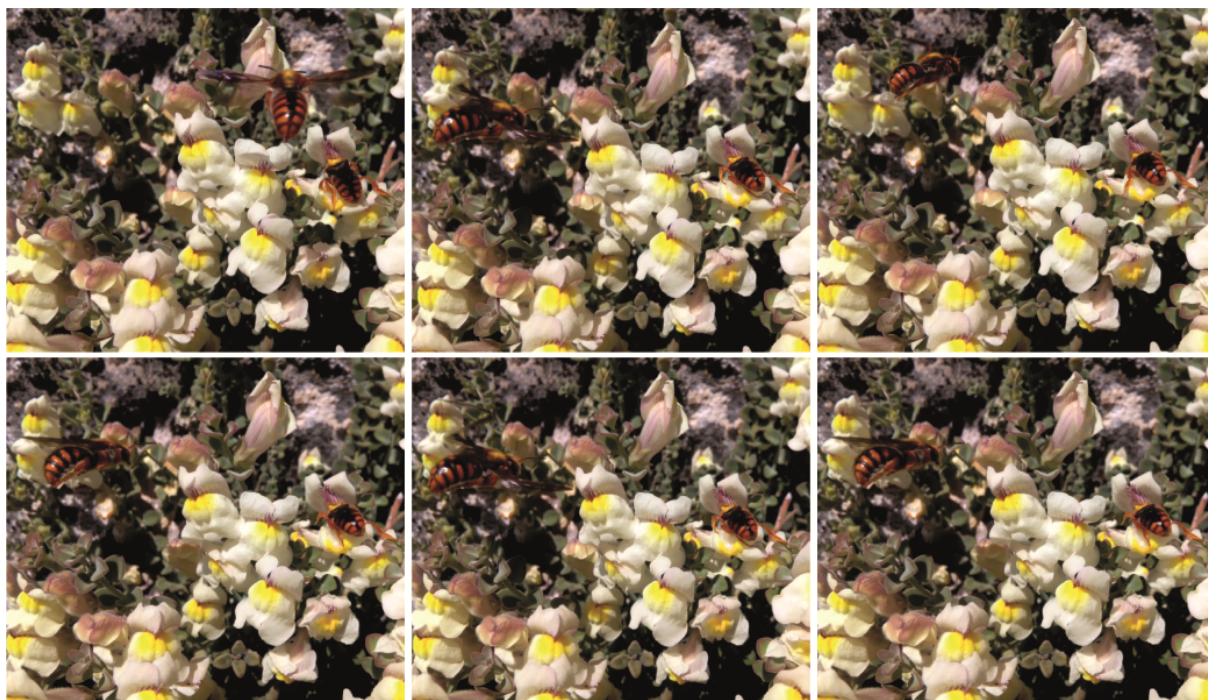


Figure 3. Male of *R. sticticum* watching a female feeding on *A. microphyllum*.



Figure 4a. Close-up of a female of *R. sticticum* visiting flowers of *A. microphyllum*.

Males protected territories with abundant flower patches, showing preference for Plantaginaceae, Labiatae and Papilionaceae shrubs. They showed a ferocious defence of the territory, mercilessly chasing, attacking and striking other male intruders, but also other bees of similar or bigger size (including much bigger bumblebees and *Xylocopa violacea* (Linnaeus, 1758) individuals) and other flying insects that happened to enter their surveillance area, like

flies or butterflies. We did not observe *Rhodanthidium* males attacking flies or any small flying insects in their territories.

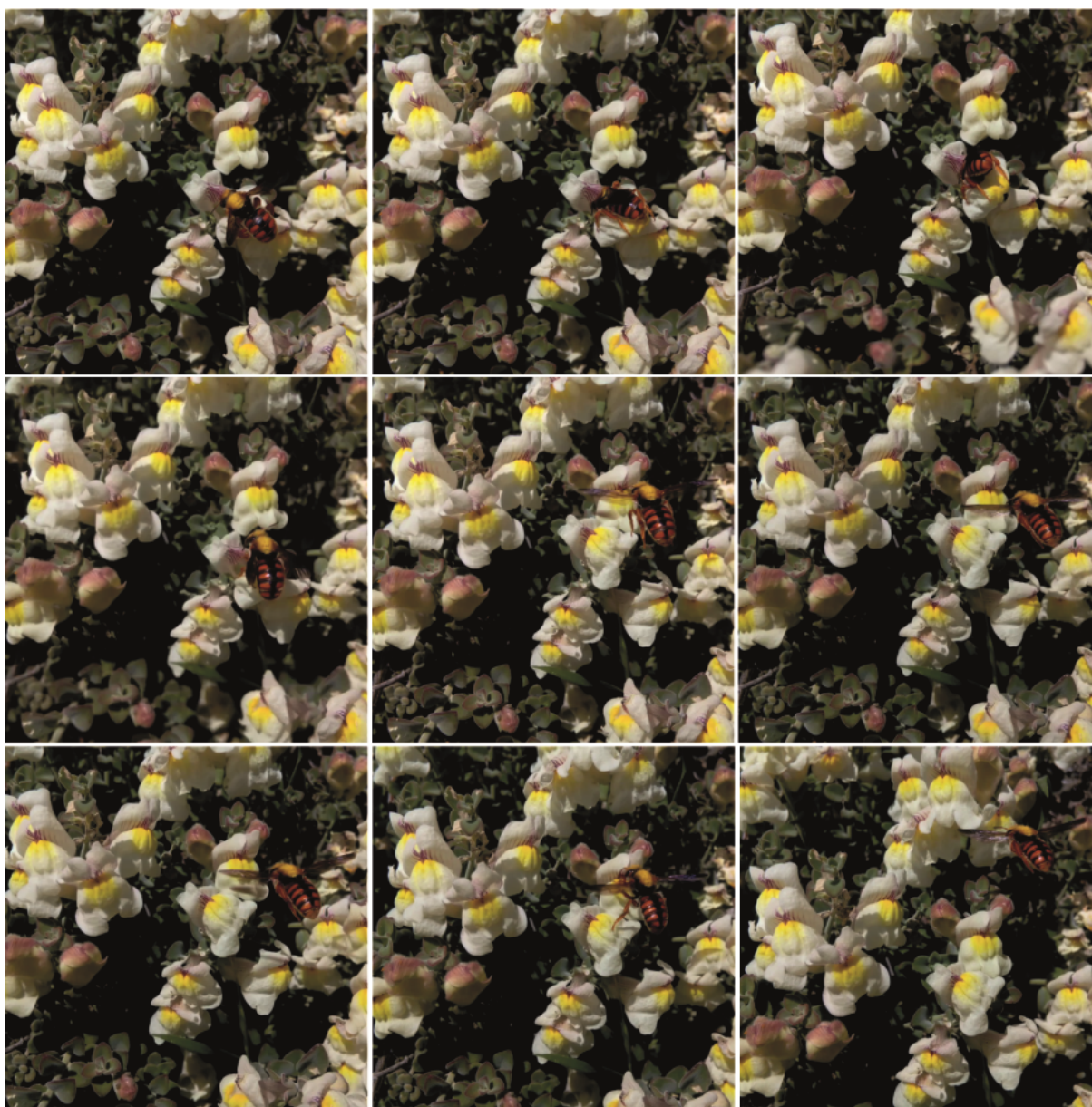


Figure 4b. Female of *R. sticticum* visiting flowers of *A. microphyllum*.

A number of mating attempts ended up in failure. Females were reluctant to the copula, so males tried to catch them unaware. When a female detected the proximity of a male while feeding or collecting nectar, it quickly took flight to avoid the male (**Fig. 5**). Contact between a male and a female did not guarantee mating either. Frequently, females wriggled out before males were able to copulate. If other male candidates were around, they frequently interrupted the copula by trying to force the first male out and get the female.

Besides, even if the male had been able to start intercourse with the female, sometimes they became too heavy for the stems they were leaning on and fell, allowing the female to escape (**Fig. 6**). During a successful intercourse (**Fig. 7**), a characteristic sound, i.e. a continuous, rhythmic, dry clickety-clack noise can be heard in the distance (10-20 m) caused by the hitting of the cuticles.



Figure 5. Female of *R. sticticum* facing a male that was trying to copulate.

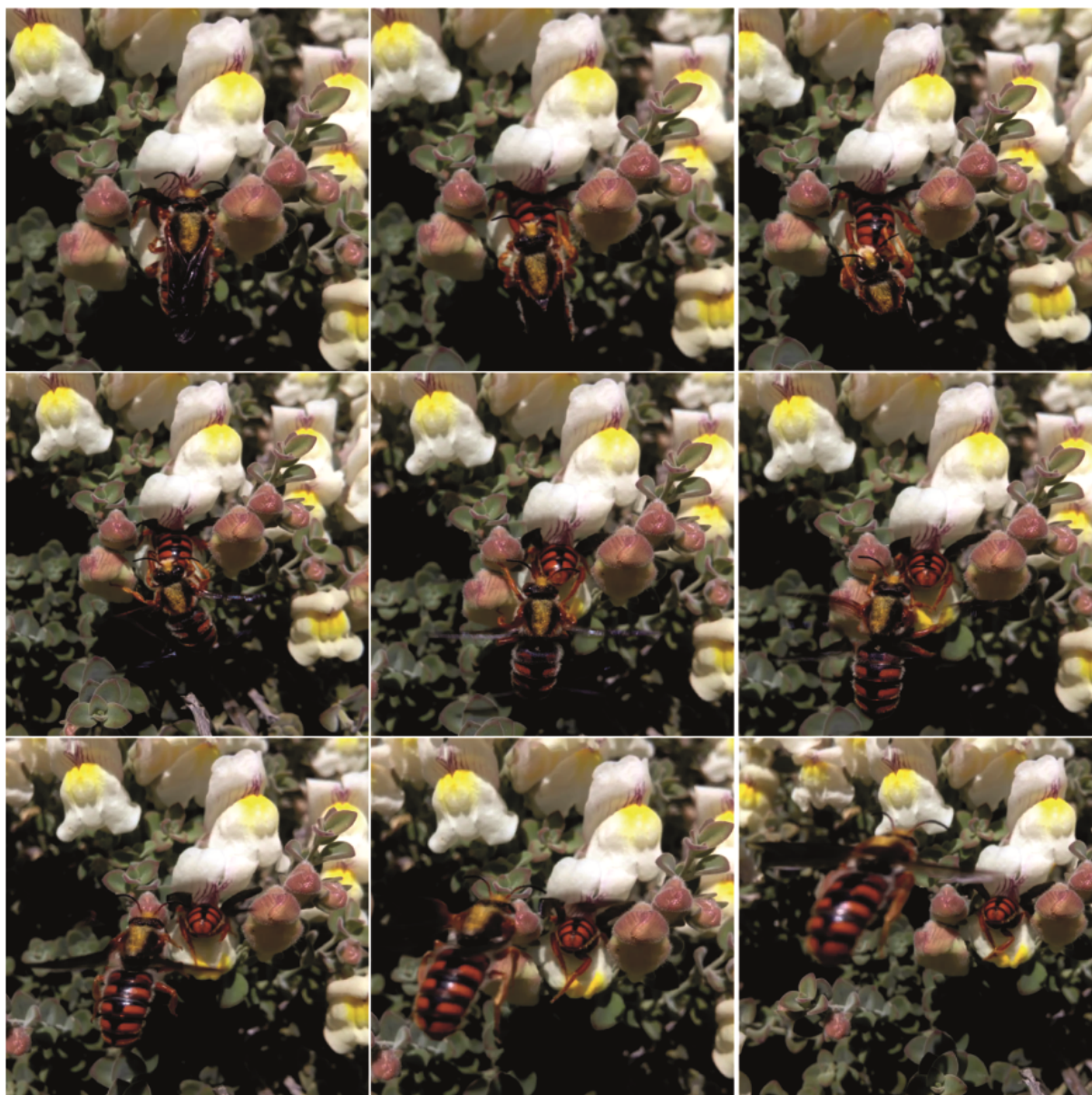


Figure 6a. Male of *R. sticticum* unsuccessfully trying to mate while a female was visiting flowers of *A. microphyllum*.

DISCUSSION

Phenology

Rhodanthidium sticticum is a very active bee during the flowering period (from March until June) and earlier (February) in warmer areas. Most of records were taken between March and May, extending until mid June, matching the data from previous studies in the Iberian Peninsula (Vargas *et al.*, 2010), and then they overlap with data from other

geographic areas of the species (Morocco, Algeria and Sicily: Kasperek & Lhomme, 2019; Algeria: Aguib *et al.*, 2010). There are no records in literature or in collections about the presence of the species later than June. Nevertheless, Kasperek (2019) stated that it is “an early spring and late autumn species with possibly two generations per year” and that it was found in Spain in October/November. It appears to be, however, a univoltine species, like *R. siculum* or other Anthidiini bees (for example, *Anthidium florentinum*: Fortunato *et al.*, 2013).

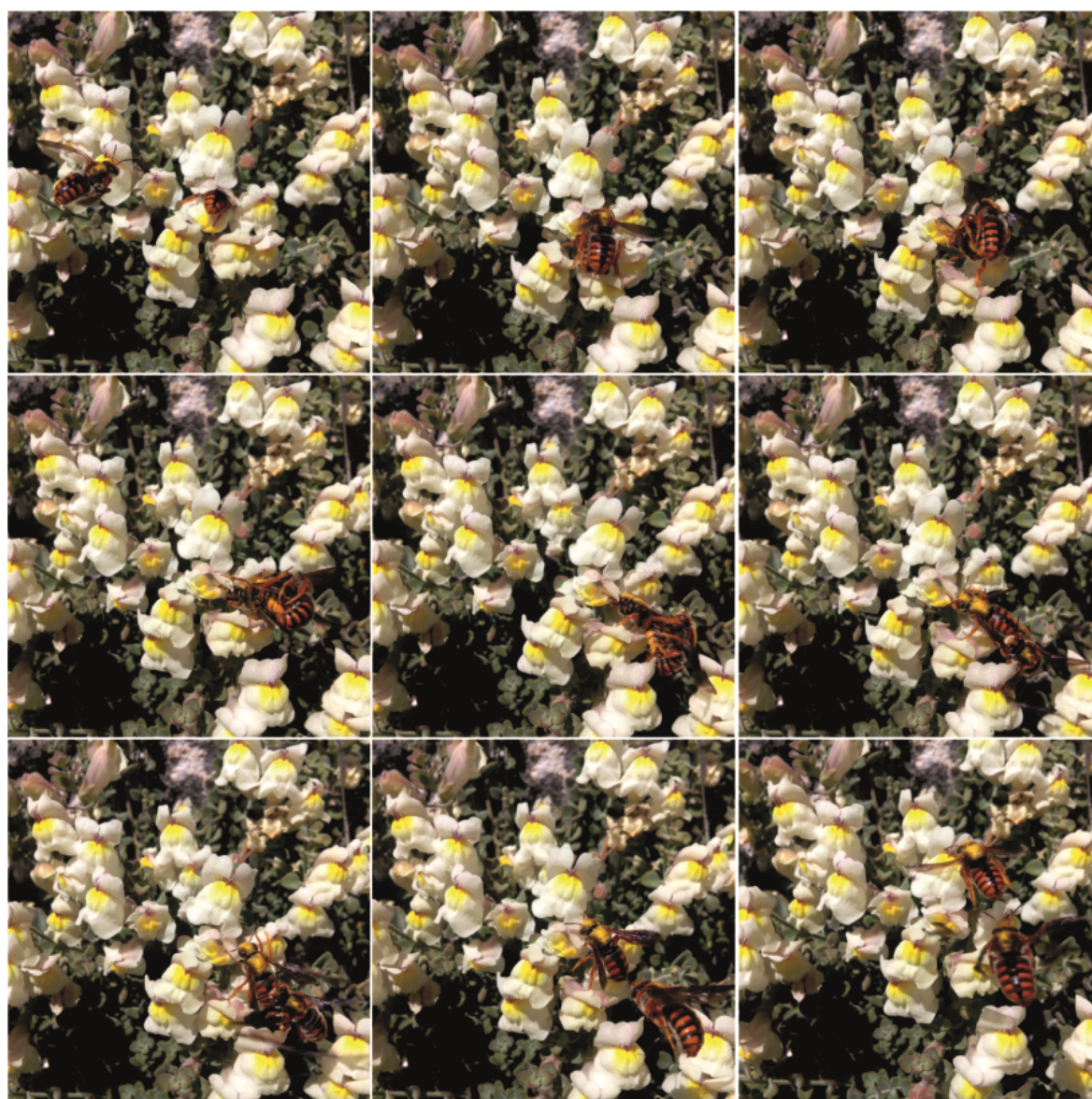


Figure 6b. Male of *R. sticticum* harassing a female and unsuccessfully trying to copulate with it while it fed on flowers of *A. microphyllum*.

Flying period for this species starts early and is relatively long, similar to *R. septemdentatum* (Kasperek, 2019) but longer than *R. siculum* (Ortiz-Sánchez, 1990; Aguib *et al.*, 2010; Erbar & Leins, 2017), probably due to the fact that *R. siculum* is associated to warmer climate and its optimal period is shorter (Romero *et al.*, 2020a).



Figure 7. Male and female of *R. sticticum* copulating.

Sheltering in shells

Our results show that *R. sticticum* is active in sunny, not windy days, as most of the records on the flight were obtained under those conditions, corroborating previous observations by other studies (Torres *et al.*, 2001; Vargas *et al.*, 2010; Romero *et al.*, 2020a). However during cloudy, rainy and windy days, or at the late afternoon, *R. sticticum* bees were mostly found sheltering inside snail shells. *Afranthidium hamaticauda* Pasteels, 1984, *A. odonturum* (Cockerell, 1932) (Gess & Gess, 1999, 2008, 2014) and *Hoplitis conchophila* Kuhlmann, 2011 (Kuhlmann *et al.*, 2011) also use snail shells for sheltering, but this behaviour has rarely been described in detail. In those cases, the authors did not provide any information about weather conditions or time of the day when the bees were observed. Considering the location (the Namibian desert) the use for sheltering is, most likely, to protect themselves against the heat of the central hours of the day and predators, or to stay over at night. Despite the existence of detailed descriptions of the nesting behaviour of

Rhodanthidium bees inside snail shells (Pasteels, 1977; Erbar & Leins, 2017), sheltering has never been described before on this species.

Of all the bees found in shells, 30% were sharing and most of them were males. This behaviour contrasts with the strong territoriality at flying. There are no previous records of other bee species in their adult phase sharing shells with other individuals. The reasons could be diverse. Multiple individuals sharing the same shell may occur because they were born in it (phylopatry), high density of bees but low density of shells, or the urge to rapidly find a shelter when the weather suddenly changes. The fact that most of the sharing bees were males is probably due to the higher proportion of males. The estimated male-female proportion (3 males per female) is higher than other Anthidiini bees (*Anthidium florentinum*, Fortunato *et al.*, 2013).

Plant visitation and polylecty

Our results indicate low specificity of *R. sticticum* for particular plant species, in agreement with previous studies (Bosch *et al.*, 1993; Aguib *et al.*, 2010; Torné-Noguera *et al.*, 2014). Specificity of bees to special feeding plants has been described as a rare phenomenon (Cane & Sipes, 2006; González-Varo *et al.*, 2016). Indeed, *R. sticticum* appears to be a polylectic bee (Bosch *et al.*, 1993; Müller, 1996), although it has preference for bee-specialized (melittophilous) plants, such as *Antirrhinum*, *Linaria* and Papilionaceae, and for throated-corolla flowers, like the Labiatae (**Table S1, S2**). Specificity of flowers to bees usually show fusion of petals (sympetaly), long corolla throats and even a bipartite perianth (Vargas *et al.*, 2010; Blanco-Pastor *et al.*, 2015). In snapdragons (*Antirrhinum* and relatives), an occluded corolla hinders the entrance of insects other than bees and some other Hymenoptera. Although bees are blinded inside the flower, the bottom of the flower gives highly appreciated nectar for bees. *Rhodanthidium sticticum* females also collect large amounts of pollen produced by the anthers, getting enough resources from a few flowers to feed on and store in their nests. It is particularly noteworthy the interest showed by *R. sticticum* in many *Antirrhinum* species (see **Table S1, S2**), showing a close relationship between them (Vargas *et al.*, 2017).

Flight ability

Flight ability by *R. sticticum* is quite similar to that described for *R. septemdentatum* (Nachtigall, 1997a). Given the flight skills of *Rhodanthidium*, we hypothesize that these territorial bees have good sight not only finding mates and flowers to feed on, but also controlling small patches of plants that have to constantly patrol. Very few and recent studies concerning sight and perception have been performed on solitary bees (Loukola *et al.*, 2020), but multiple discoveries in bumblebees confirmed learning skills, precise colour and shape discrimination (Giurfa *et al.*, 1995; Spaethe *et al.*, 2001; Dyer & Chittka, 2004; Solvi *et al.*, 2020). The exploratory behaviour observed in *R. sticticum* is very similar to that described by Loukola *et al.* (2020) in *Osmia* bees when searching for suitable nesting sites.

Territoriality and mating

Rhodanthidium sticticum males, like most Anthidiini bees, are usually larger than females (García-González & Ornos, 1999; Michener, 2007; Erbar & Leins, 2017), a likely consequence of territoriality because body size may help them to defend better territories (Severinghaus *et al.*, 1981; Villalobos & Shelly, 1991). Defence of territory is widely spread among Anthidiini (Michener, 2007). Selection of territories, where bee-specialized flowers are predominant, has been previously reported for *Anthidium maculosum* (Alcock *et al.*, 1977), *A. septemspinosum* (Sugiura, 1991), *Anthidiellum notatum* and *A. perplexum* (Turell, 1976). Flowering plant communities with long-throated corollas make bee females more vulnerable, including difficulties in seeing nearby males and flying away from them. In the closely related species *R. siculum*, however, the defended territory is not rich in feeding flowers, but in empty shells for nesting (Erbar & Leins, 2017). In this case, *R. siculum* males take advantage of females when they are inside the shells. Despite the abundance of deep-corolla flowers, many attempts at copulation were unsuccessful, due to the lack of receptiveness and the ready flight of the females, just like in other Anthidiini bees (Wainwright, 1978; García-González & Ornos, 1999; Erbar & Leins, 2017).

In the case of *R. sticticum*, the fierce defence is oriented not only against other males, but also against individuals from other species. This behaviour has also been described for *A. florentinum*, against much bigger *Xylocopa violacea* bees (García-González & Ornos, 1999), for *A. maculosum* against hawkmoths (Alcock *et al.*, 1977) or for *A. palmarum* against

Anthophora bees (Wainwright, 1978). A different behaviour is showed by *Anthidiellum notatum* and *A. perplexum*, smaller Anthidiini that do not strike the intruders, but just chase them until they leave the territory (Turell, 1976). On the other extreme are *Anthidium manicatum*, whose males bear long spines at the end of the abdomen which they use to hurt or even kill intruders (Wirtz *et al.*, 1988), and *R. septemdentatum* (Natchigall, 1997b), which attacks the wings of the intruders. That extremely aggressive behaviour was not observed in *R. sticticum*, but it could not be discarded. Interspecific territoriality as shown by *R. sticticum* and the other species has been described as a way to keep competitors away from females (for nectar and pollen) and to maintain the attractiveness of the territory (Severinghaus *et al.*, 1981; Wirth *et al.*, 1988).

The fact that some males enter the territories of other males may indicate several causes: territory overlap, new or young males looking for a territory, and opportunistic wandering males without a territory. The presence of wandering males was described in *A. florentinum* (García-González & Ornos, 1999), *A. maculosum* (Alcock *et al.*, 1977), *A. manicatum* (Severinghaus *et al.*, 1981), *A. septemspinosum* (Sugiura, 1991) and *R. siculum* (Erbar & Leins, 2017), fighting because of territories overlapping was described for *A. banningense* (Jaycox, 1967) and territories changing ownership was described for *A. manicatum* (Severinghaus *et al.*, 1981). The three causes seem to be plausible for *R. sticticum*, but further observations are needed after marking individuals to confirm it.

Unlike most bees, Anthidiini females are polyandrous, whereas males exhibit resource defence polygyny (Michener, 2007). In this context, it has been demonstrated that the last copulating males have an above-average chance of fertilizing the female's egg in *A. manicatum* (Lampert *et al.*, 2014). The same has been hypothesized for *A. florentinum* (García-González & Ornos, 1999). The polyandrous behaviour of *R. sticticum* females, together with the polygyny by males, could be driven by spermatocidal competence, as it has been described in *A. manicatum* and most certainly in *A. florentinum* (García-González & Ornos, 1999; Lampert *et al.*, 2014).

CONCLUSIONS

Phenology, polylecty, flight ability, territoriality and mating behaviour of *R. sticticum* are similar to those of other Anthidiini, but with some particularities. *Rhodanthidium sticticum* is a spring bee, whose period of activity depends on weather conditions and the availability of flowers. Most of its activity (especially bee-flower interactions) occur during sunny, warm and non-windy days. On the contrary, during the night and when weather conditions are adverse (cold, rainy, windy days), bee adults take shelter inside snail shells. When hiding inside the shells, it usually shares the shells with other individuals of the same or other bee species. *Rhodanthidium sticticum* shows clear polylectic habits, but with preference for certain plant groups (Labiatae, Papilionaceae, Plantaginaceae), with a particular attraction to *Antirrhinum* nectar and pollen despite bees kept blind inside the flower for a while, increasing predation risk. Territories defended by males are, usually, flower patches with many plants of the above-mentioned plant groups, as they provide both an attractive amount of nectar and pollen for the females and long-throat corollas that prevent females from escaping the copula. We interpret that males attack other *R. sticticum* males entering their territory, as well as individuals from other flying insects, in an attempt to keep the attractiveness of their territories and to prevent other males from mating. Spermatoc competence may explain such territorial behaviour pattern.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1. Plant species visited by *Rhodanthidium sticticum* in Buendía Dam, Guadalajara (B); Cabo de Gata, Almería (C); Énix, Almería (E); Gabasa, Huesca (G); Monzón, Huesca (M); Nuévalos, Zaragoza (N).

Species	Family	Location
<i>Thapsia villosa</i> L.	Apiaceae	E
<i>Anthemis arvensis</i> L.	Asteraceae	G
<i>Carduus nigrescens</i> Vill.	Asteraceae	N
<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	Asteraceae	B
<i>Helichrysum stoechas</i> (L.) Moench	Asteraceae	B
<i>Anchusa undulata</i> L.	Boraginaceae	B
<i>Echium plantagineum</i> L.	Boraginaceae	B, E, N
<i>Echium sabulicola</i> Pomel	Boraginaceae	E
<i>Cistus albidus</i> L.	Cistaceae	E
<i>Convolvulus althaeoides</i> L.	Convolvulaceae	E
<i>Gladiolus communis</i> L.	Iridaceae	E
<i>Moraea sisyrinchium</i> Ker Gawl.	Iridaceae	E
<i>Ballota hirsuta</i> Benth.	Lamiaceae	C
<i>Lavandula multifida</i> L.	Lamiaceae	E
<i>Marrubium supinum</i> L.	Lamiaceae	E
<i>Phlomis lychnitis</i> L.	Lamiaceae	B, E, N
<i>Rosmarinus officinalis</i> Spenn.	Lamiaceae	B, N
<i>Salvia verbenaca</i> L.	Lamiaceae	B, N
<i>Sideritis tragoriganum</i> Lag.	Lamiaceae	B
<i>Thymus hyemalis</i> Lange	Lamiaceae	E
<i>Thymus mastichina</i> (L.) L.	Lamiaceae	N
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Lamiaceae	B, M, N
<i>Thymus zygis</i> Loefl. ex L.	Lamiaceae	M
<i>Lavatera maritima</i> Gouan	Malvaceae	C
<i>Anthyllis cytisoides</i> L.	Papilionaceae	E
<i>Anthyllis terniflora</i> (Lag.) Pau	Papilionaceae	E
<i>Bituminaria bituminosa</i> (L.) C.H.Stirt.	Papilionaceae	B, E
<i>Coronilla juncea</i> L.	Papilionaceae	E
<i>Coronilla minima</i> L.	Papilionaceae	B
<i>Hedysarum boveanum</i> Bunge ex Basiner	Papilionaceae	G
<i>Lathyrus clymenum</i> L.	Papilionaceae	E
<i>Medicago sativa</i> L.	Papilionaceae	N
<i>Ononis natrix</i> L.	Papilionaceae	E
<i>Antirrhinum pulverulentum</i> Lázaro Ibiza	Plantaginaceae	N
<i>Antirrhinum microphyllum</i> Rothm.	Plantaginaceae	B
<i>Antirrhinum molle</i> L.	Plantaginaceae	G
<i>Antirrhinum mollissimum</i> (Pau) Rothm.	Plantaginaceae	E
<i>Antirrhinum tortuosum</i> Bosc ex Vent.	Plantaginaceae	Taza, Tazekka (Morocco)
<i>Linaria aeruginea</i> (Gouan) Cav.	Plantaginaceae	N
<i>Reseda lutea</i> L.	Resedaceae	B
<i>Reseda phyteuma</i> L.	Resedaceae	E
<i>Ruta angustifolia</i> Pers.	Rutaceae	B
<i>Asphodelus fistulosus</i> L.	Xanthorrhoeaceae	E

Table S2. Plant species visited by *Rhodanthidium sticticum* obtained from bibliography.

Species	Family	Location	Source
<i>Hedysarum coronarium</i> L.	Papilionaceae	Constantine, Oum El	Aguib <i>et al.</i> , 2010
<i>Cytisus linifolius</i> (L.) Lam.	Papilionaceae	Bouaghi (Algeria)	
<i>Carduus</i> sp.	Asteraceae		
<i>Centaurea nicaeensis</i> All.	Asteraceae		
<i>Crepis vesicaria</i> L.	Asteraceae		
<i>Malva sylvestris</i> L.	Malvaceae		
<i>Helianthemum caput-felis</i> Boiss.	Cistaceae	Punta de la Glea (Alicante)	Aguiló <i>et al.</i> , 2015
<i>Linaria almijarensis</i> Campo & Amo	Plantaginaceae	Cabra (Jaén)	Blanco-Pastor <i>et al.</i> , 2015
<i>Linaria amoi</i> Campo ex Amo	Plantaginaceae	Canillas de Aceituno (Málaga)	
<i>Linaria anticaria</i> Boiss. & Reut.	Plantaginaceae	El Torcal, Antequera (Málaga)	
<i>Linaria depauperata</i> subsp. <i>hegelmaieri</i> (Lange) De la Torre, Alcaraz & M.B. Crespo	Plantaginaceae	Arenal de Petrel (Alicante)	
<i>Linaria platycalyx</i> Boiss.	Plantaginaceae	Zahara de la Sierra (Cádiz)	
<i>Linaria polygalifolia</i> Hoffmanns. & Link	Plantaginaceae	Monte Gordo (Algarve, Portugal)	
<i>Cistus</i> sp	Cistaceae	Cazorla or Les	Bosch <i>et al.</i> , 1993
<i>Hippocrepis</i> sp	Plantaginaceae	Garrigues (not specified)	
<i>Quercus</i> sp	Fagaceae		
<i>Centaurea linifolia</i> L.	Asteraceae	El Garraf Natural Park (Barcelona)	Bosch, pers.com.
<i>Anagallis arvensis</i> L.	Primulaceae		
<i>Biscutella laevigata</i> L.	Brassicaceae		
<i>Centaurea paniculata</i> L.	Asteraceae		
<i>Cistus albidus</i> L.	Cistaceae		
<i>Cistus salviifolius</i> L.	Cistaceae		
<i>Convolvulus althaeoides</i> L.	Convolvulaceae		
<i>Dorycnium hirsutum</i> (L.) Ser.	Papilionaceae		
<i>Gladiolus communis</i> L.	Iridaceae	Dehesa del Saler (Valencia)	Carrió & Güemes, 2013
<i>Iris lutescens</i> Lam.	Iridaceae		
<i>Muscari neglectum</i> Guss. ex Ten.	Asparagaceae		
<i>Orobancha latisquama</i> (F.W. Schultz) Batt.	Orobanchaceae		
<i>Phlomis lychnitis</i> L.	Lamiaceae		
<i>Ranunculus gramineus</i> L.	Ranunculaceae		
<i>Rhaponticum coniferum</i> (L.) Greuter	Asteraceae		
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae		
<i>Sideritis hirsuta</i> L.	Lamiaceae		
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Lamiaceae		
<i>Fumana hispidula</i> Loscos & J. Pardo	Cistaceae		
<i>Antirrhinum microphyllum</i> Roth.	Plantaginaceae	Entrepeñas (Guadalajara)	Escudero <i>et al.</i> , 2003
<i>Linaria viscosa</i> (L.) Chaz.	Plantaginaceae	SE Iberian Peninsula	Fernández-Mazuecos
<i>Linaria clementei</i> Haens.	Plantaginaceae		

<i>Linaria salzmännii</i> Boiss.	Plantaginaceae	Málaga	<i>et al.</i> , 2013
<i>Astragalus tragacantha</i> L.	Papilionaceae	Calanques National Park (Marseille, France)	Schurr <i>et al.</i> , 2019
<i>Antirrhinum microphyllum</i> Rothm.	Plantaginaceae	Bolarque (Guadalajara)	Torres <i>et al.</i> , 2001, 2002
<i>Antirrhinum charidemi</i> Lange	Plantaginaceae	Cabo de Gata (Almería)	Vargas <i>et al.</i> , 2010
<i>Antirrhinum australe</i> Rothm.	Plantaginaceae	Benaocaz and Zahara de la Sierra (Cádiz)	Vargas <i>et al.</i> , 2017
<i>Antirrhinum barrelieri</i> Boreau	Plantaginaceae	Mojácar-Carboneras (Almería)	
<i>Antirrhinum hispanicum</i> Chav.	Plantaginaceae	Guéjar Sierra; Trevenque; Abrucena (Granada)	
<i>Antirrhinum microphyllum</i> Rothm.	Plantaginaceae	Buendía dam, Sacedón (Cuenca)	
<i>Antirrhinum molle</i> L.	Plantaginaceae	Gabasa (Huesca)	
<i>Antirrhinum mollissimum</i> (Pau) Rothm.	Plantaginaceae	Énix (Almería)	
<i>Antirrhinum pulverulentum</i> Lázaro Ibiza	Plantaginaceae	Nuévalos (Zaragoza)	

DISCUSIÓN GENERAL

Este apartado se ha organizado de un enfoque más general a otro más particular. Se describen los resultados filogenéticos del género *Rhoanthidium* y géneros próximos, incluyendo una propuesta de reclasificación del género *Rhodanthidium*, pasando por los análisis filogeográficos de un grupo natural (monofilético) de especies con características comunes (*Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum*) y su papel en la polinización de comunidades vegetales, hasta finalizar con una descripción de nuevos resultados sobre la biología de *Rhodanthidium sticticum*.

Filogenia del género *Rhodanthidium*

Los análisis filogenéticos de inferencia Bayesiana y máxima verosimilitud a partir de los genes **28S**, **CAD**, **EF1-alfa**, **LW-rodopsina** y **NAK** realizados para este trabajo, dieron como resultado árboles filogenéticos con topologías congruentes. Por un lado, las especies de *Rhodanthidium* nidificantes en conchas de caracol (*Rhodanthidium infuscatum*, *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum*), todas pertenecientes al subgénero *Rhodanthidium*, forman un clado bien definido y bien apoyado. El grupo hermano de este clado ha resultado estar formado por especies de los géneros *Cyphanthidium* Pasteels, 1969 e *Icteranthidium* Michener, 1948, y no del resto de especies de *Rhodanthidium* (Litman *et al.*, 2011, 2016) (**Capítulo 1**). Estos análisis también mostraron otro grupo filogenéticamente alejado que está compuesto por tres especies de *Rhodanthidium* pertenecientes a los subgéneros *Meganthidium* (*Rhodanthidium superbum*) y *Asianthidium* (*Rhodanthidium caturigense* y *Rhodanthidium glasunovi*).

Los resultados de esta investigación (**Capítulo 1**) refuerzan las conclusiones derivadas de otros análisis filogenéticos basados en secuencias de ADN a nivel de tribu, corroborando la falta de monofilia del género *Rhodanthidium* (Litman *et al.*, 2016), pero contradicen, en parte, a los resultados obtenidos en estudios de filogenias basadas en caracteres morfológicos, que situaban a todos los representantes del género *Rhodanthidium* juntos (Müller, 1996). No obstante, la filogenia morfológica también mostraba a todas las especies

de *Rhodanthidium* nidificantes en caracoles formando un grupo bien definido (Müller, 1996). Por otro lado, *R. superbum* es el único miembro del subgénero *Meganthidium*, pero tiene similitudes morfológicas notables con *R. glasunovi*, la especie tipo del subgénero *Asianthidium* (Ornosa *et al.*, 2008; Kasperek, 2019) y con *R. aculeatum* (Mavromoustakis, 1962), perteneciente al mismo subgénero. Los análisis filogenéticos apuntan en la dirección de unificar ambos subgéneros, apoyados además por caracteres morfológicos y agrupar *R. glasunovi* y *R. superbum* con *R. caturigense* en un mismo grupo en beneficio de una clasificación natural.

Los resultados obtenidos, por tanto, contribuyen al mejor conocimiento de este grupo de abejas (**Capítulo 1**). La filogenia de la tribu Anthidiini, basada en caracteres morfológicos y elaborada por Müller (1996), situaba al género *Rhodanthidium*, junto con los géneros *Anthidiellum* Cockerell, 1904 y *Eoanthidium* Popov, 1950, con *R. aculeatum* como especie hermana de todo el conjunto. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el estudio de Müller (1996) se centraba en especies de Anthidiini paleárticas, mientras que la filogenia molecular elaborada por Litman *et al.* (2016) incluía representantes de todos los géneros y subgéneros de Anthidiini del mundo. Con otra perspectiva, en una filogenia morfológica de la familia Megachilidae (González *et al.*, 2012), se situaba a *R. septemdentatum* como la especie hermana de un clado formado por varias especies diferentes, incluyendo a *Icteranthidium ferrugineum*, pero alejada en el árbol de los géneros *Anthidiellum* o *Eoanthidium*. No obstante, las incongruencias entre datos moleculares y caracteres morfológicos son comunes en las filogenias de Apoideos (Porto *et al.*, 2016; Bossert *et al.*, 2020; Ferrari *et al.*, 2020) y están causadas, frecuentemente, por la selección de rasgos homoplásicos como caracteres diagnósticos (Dorchin *et al.*, 2018).

Propuesta de una clasificación genérica y subgenérica

Teniendo en cuenta los resultados presentados aquí (**Capítulo 1**) y los trabajos taxonómicos y filogenéticos previos que incluían a representantes de *Rhodanthidium* (Müller, 1996; González *et al.*, 2012; Litman *et al.*, 2016), se propone una nueva clasificación del género (**Tabla 1**). El género *Rhodanthidium* se mantendría integrado por las especies

previamente asignadas al subgénero *Rhodanthidium*, mientras que las pertenecientes a los subgéneros *Meganthidium* y *Asianthidium* se unificarían en el género ***Meganthidium*** Popov, 1950, quedando ambos como subgéneros de *Meganthidium*. Por otra parte, dentro del género *Rhodanthidium*, *R. infuscatum* aparece como especie hermana del clado de las abejas de los caracoles (*R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum*), por lo que podría mantenerse como un subgénero monoespecífico (*Bellanthidium* Pasteels, 1969), tal y como ya se ha propuesto basándose en sus rasgos morfológicos (Pasteels, 1969; Michener, 2007). No obstante, aunque Michener (2007) indicó que el subgénero *Bellanthidium* tenía sentido taxonómico, lo descartó debido a las claras similitudes de *R. infuscatum* con el resto de las especies de *Rhodanthidium* s. str., opinión que aquí se suscribe (**Capítulo 1**).

Tabla 1. Clasificación propuesta para *Asianthidium*, *Meganthidium* y *Rhodanthidium*. El asterisco indica la propuesta antigua de aceptar un subgénero monoespecífico (*Bellanthidium*) para *R. infuscatum*.

Género	Subgénero	Especie	Nidificación
<i>Meganthidium</i>	<i>Asianthidium</i>	<i>M. aculeatum</i>	Desconocida
		<i>M. caturigense</i>	En el suelo
		<i>M. glasunovi</i>	Desconocida
	<i>Meganthidium</i>	<i>M. superbum</i>	Desconocida
<i>Rhodanthidium</i>	<i>Rhodanthidium</i>	<i>R. acuminatum</i>	Desconocida
		<i>R. buteum</i>	Desconocida
		<i>R. exsectum</i>	Desconocida
		<i>R. infuscatum</i>*	Conchas de caracol
		<i>R. septemdentatum</i>	Conchas de caracol
		<i>R. siculum</i>	Conchas de caracol
		<i>R. sticticum</i>	Conchas de caracol

Controversias en torno a las especies y subespecies de *Rhodanthidium* del Mediterráneo Occidental

Dentro del género *Rhodanthidium*, son varias las relaciones a nivel infraespecífico que no están del todo claras (Michener, 2007). Así, sucede que *Rhodanthidium caturigense* y *Rhodanthidium septemdentatum* podrían incluir complejos de especies. Algunas de las subespecies aceptadas por unos autores (*Rhodanthidium sticticum ordonezi*, *Rhodanthidium septemdentatum rufocinctum*) reciben el rango de especie de otros (Kasperek, 2019).

La primera de ellas (endémica de Marruecos) se refiere al estatus de *R. sticticum ordonezi* como subespecie o especie. Inicialmente fue descrita como especie, *Rhodanthidium ordonezi* (Dusmet, 1915), y morfológicamente más similar a *R. septemdentatum* que a *R. sticticum*, a pesar de la ausencia de *R. septemdentatum* en el continente africano (Ornosa *et al.*, 2008). Tras una revisión realizada por Pasteels (1969), recibió la categoría de subespecie. Sin embargo, recientemente, se ha considerado de nuevo como especie (*R. ordonezi*), a partir de análisis de coloración y rasgos morfológicos menores (Kasperek & Lhomme, 2019). No obstante, los resultados presentados en este estudio, basados en cinco genes nucleares, no muestran diferencias moleculares significativas a nivel de especie entre *R. sticticum sticticum* y *R. sticticum ordonezi* (**Capítulo 1**), aunque sí muestran la existencia de haplotipos mitocondriales únicos, próximos a un hipotético haplotipo ancestral y al haplotipo predominante (**haplotipo A**) de *R. sticticum* (**Capítulo 2**). Por todo ello, *R. sticticum ordonezi* debería tratarse como una subespecie de *R. sticticum* y no recibir la categoría de especie.

El segundo aspecto controvertido acerca de la clasificación infraespecífica de *Rhodanthidium*, que se ha analizado, es el que se refiere a la consideración de *R. septemdentatum* como un complejo de especies. Los representantes de las poblaciones del Mediterráneo Occidental y de Europa Central incluidos en la filogenia de *Rhodanthidium* pertenecen, sin género de duda, a un clado monofilético y bien definido, formado exclusivamente por individuos de *R. septemdentatum* (**Capítulo 1**). No obstante, en el presente estudio no se incluyen poblaciones del Mediterráneo Oriental y Oriente Medio, por lo que serán necesarios futuros estudios para determinar su categoría taxonómica. Del mismo modo, las poblaciones de *R. septemdentatum* de Malta no pertenecen a la especie *R. rufocinctum*, como sugería Kasperek (2019), sino que están estrechamente relacionadas con las poblaciones de *R. septemdentatum* de Sicilia (**Capítulo 2**).

Diversidad genética y estructura filogeográfica de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum*

En lo concerniente a las relaciones infraespecíficas de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum*, los resultados presentados en esta

investigación refutan la hipótesis planteada, según la cual las tres especies tenían patrones filogeográficos similares (**Capítulo 2**). El estudio de filogeografía comparada revela patrones complejos congruentes, con tres especies estrechamente emparentadas y asentadas en el Mediterráneo desde las últimas épocas geológicas. Las distintas distribuciones de las tres especies de *Rhodanthidium*, pese a ser coincidentes en gran medida, indican historias evolutivas diferentes, pero también las reconstrucciones filogeográficas sugieren una estructura geográfica pobre y una alta conectividad entre áreas geográficas distantes.

Los análisis filogenéticos, basados en secuencias de **COII**, apoyan claramente la existencia de monofilia de las poblaciones en *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum*. Además, muestran dos linajes bien apoyados de *R. siculum* y tres de *R. septemdentatum*. Las redes de haplotipos, a su vez, indican cierta distribución geográfica en los agrupamientos de dichos haplotipos (haplogrupos). Aunque los resultados obtenidos no son definitivos, a falta de muestreos en la zona oriental, la diversidad genética encontrada en las tres especies es relativamente alta, para la cual encontramos los valores más altos en *R. septemdentatum* ($H = 0.965$) y los más bajos en *R. sticticum* ($H = 0.627$). En contraste con esto, los análisis de diferenciación genética muestran unos valores de aislamiento muy altos entre los grupos de poblaciones de *R. siculum* ($F_{ST} = 0.926$), frente a los valores considerablemente inferiores de aislamiento entre áreas de *R. septemdentatum* ($F_{ST} = 0.479$) y *R. sticticum* ($F_{ST} = 0.334$) (**Capítulo 2**). En relación a esto, la existencia de haplotipos compartidos y unos niveles bajos de aislamiento entre áreas indican poca estructura geográfica, lo que es compatible con una elevada conectividad entre áreas en términos de haplogrupos y haplotipos.

Dicho esto, la ausencia de estructura genética y un elevado flujo génico, son características que se atribuyen, generalmente, a especies que vuelan muy bien (Chapman *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2008; Exeler *et al.*, 2010; Černá *et al.*, 2013), generalistas y especies pioneras (Černá *et al.*, 2013). De igual modo, el parecido genético entre las poblaciones de *R. septemdentatum* de la Península Ibérica y de Europa Central (y, en menor medida, entre Sicilia y Europa Central), y entre las poblaciones de *R. sticticum* de Iberia y Sicilia, también apunta a una colonización recurrente durante el curso de la historia evolutiva de las poblaciones (Kasperek, 2019; Romero *et al.*, 2020a) (**Capítulo 2**). Asimismo, otros factores que pueden causar una limitación del flujo génico entre poblaciones son la especialización en plantas y en el sustrato de nidificación (Danforth *et al.*, 2003; Černá *et al.*, 2013). Sin

embargo, no es este el caso de ninguna de las tres especies de *Rhodanthidium* consideradas, que son polilécticas (Erbar & Leins, 2017; Kasperek, 2019; Romero *et al.*, 2020b) y que, pese a depender de la disponibilidad de conchas de caracol para nidificar y refugiarse, su presencia es abundante en las amplias zonas calizas de Europa y el norte de África (**Capítulo 3, 5**). De hecho, estudios recientes han demostrado que estas especies de *Rhodanthidium* no dependen de especies concretas de Gasterópodos, siempre y cuando las conchas disponibles sean de mediano o gran tamaño (Erbar & Leins, 2017; Romero *et al.*, 2020a). Además, unos niveles elevados de diversidad genética son esperables para abejas solitarias, como las del género *Rhodanthidium*, ya que tienen que moverse más y más lejos para encontrar pareja y reproducirse que las especies sociales (Paxton, 2005; Exeler *et al.*, 2010), recayendo generalmente sobre los machos una mayor movilidad (Penha *et al.*, 2014). En el caso de *R. sticticum*, no obstante, la explicación más probable para sus elevados valores de diferenciación sería el aislamiento geográfico entre poblaciones (en el norte de África, la Península Ibérica y Sicilia), como ocurre en otras especies de Apoideos (Neumann & Seidelmann, 2006; Soro *et al.*, 2010). La existencia de uno o muy pocos haplotipos predominantes, como le ocurre a *R. sticticum* con los haplotipos de **COII A, B y C** (**Capítulo 2**), se asocia con frecuencia a las especies que tienen una elevada capacidad de dispersión y establecimiento (colonización), por lo que pueden superar diversas barreras, terrestres y marinas y formar nuevas poblaciones (Kim *et al.*, 2008; Černá *et al.*, 2013).

Además, las secuencias de COII revelaron un gran número de haplotipos terminales exclusivos en *R. sticticum*, lo que es indicativo de un aislamiento reciente (**Capítulo 2**). No obstante, el **haplotipo A** está presente en más de la mitad de los ejemplares de *R. sticticum* analizados en esta investigación (143 de 236 muestras), en tres de las cuatro entidades geográficas estudiadas (aparece en la Península Ibérica, en Sicilia y, aunque solo con un representante, en el norte de África), provocando los valores bajos de diferenciación genética obtenidos en los análisis. Por ejemplo, las poblaciones sicilianas son, genéticamente, muy parecidas a las poblaciones ibéricas ($F_{ST} = 0.098$), debido a la hegemonía del **haplotipo A** en ambas áreas. La gran mayoría de los individuos con el mencionado haplotipo provenían de la Península Ibérica (133 muestras con **haplotipo A**) y, en menor medida, de Sicilia (ocho muestras). Además, un individuo del sur de Francia presentaba este mismo haplotipo. De este modo, teniendo en cuenta la distribución

continua de la especie desde el sur de Portugal al sur de Italia (Ornosa *et al.*, 2008; Kasperek & Lhomme, 2019), parece sensato deducir que las poblaciones de *R. sticticum* están conectadas en su distribución europea continental desde antiguo, tal como ocurre con otros Apoideos, como *Osmia bicornis* (Neumann & Seidelmann, 2006) y *Bombus pascuorum* (Scopoli, 1763) (Widmer & Schmid-Hempel, 1999). Asimismo, como muestran la red de haplotipos y la filogenia de *R. sticticum* (**Capítulo 2**), los haplotipos más **ancestrales** son los pertenecientes a la subespecie *R. sticticum ordonezi* (son los más basales y los más próximos al grupo externo). La distribución reducida y el aislamiento de dicha subespecie, al sur de la cordillera del Atlas (Dusmet, 1915a; Kasperek & Lhomme, 2019), sugieren que estas montañas albergan no solo el linaje ancestral de la especie, sino también áreas refugio. Teniendo en consideración esta estructuración filogeográfica con respecto al resto de haplotipos, es más que probable que el haplotipo A, el más extendido, con un mayor número de conexiones y presente en más de la mitad de los ejemplares estudiados, sea un haplotipo ancestral secundario (**Capítulo 2**).

Por el contrario, el flujo génico entre poblaciones de *R. siculum* de zonas alejadas geográficamente es bajo (en este caso, entre Sicilia, en un extremo de su distribución, y la Península Ibérica y el norte de África, en el otro), mostrando esta especie una fuerte estructura genética, probablemente debido a su distribución disyunta, a pesar de que haya algunas poblaciones (en Sicilia y el sur ibérico) que presentan individuos de los dos haplogrupos. Sin embargo, el flujo génico entre el sur de la Península Ibérica y el norte de África parece significativo, pero, debido al bajo número de muestras de *R. siculum* analizadas, estos resultados deben ser tomados con prudencia. Algo parecido ocurre entre las poblaciones de *R. septemdentatum*, aunque se establece un interesante patrón de aislamiento entre las islas Mediterráneas, con altos niveles de diferenciación y la existencia de haplogrupos monotípicos, siendo las poblaciones de Mallorca muy distintas, genéticamente, de las poblaciones sicilianas y, especialmente, de las de Malta (**Capítulo 2**). No obstante, pese a que en este trabajo se analizaron los rangos completos de distribución de *R. sticticum* y *R. siculum*, para *R. septemdentatum* solo fue posible estudiar las poblaciones de Europa Central y del Mediterráneo Occidental, por lo que son necesarias futuras investigaciones que permitan una imagen global de la estructura poblacional y la distribución de linajes y haplotipos en toda su distribución.

Filogeografía y colonización de las especies de *Rhodanthidium* nidificantes en caracoles

Teniendo en cuenta las relaciones infraespecíficas mencionadas en el apartado anterior, descritas con detalle en el **Capítulo 2**, *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* presentan un patrón general, con múltiples conexiones entre áreas geográficas distantes del continente y un aislamiento consistente en las islas del Mediterráneo. A tenor de esto, la diferenciación genética, para las tres especies, sigue un patrón claro: las poblaciones menos singulares son aquellas cuyas distribuciones son continuas (como *R. septemdentatum* entre la Península Ibérica y Centroeuropa, o entre Centroeuropa y Sicilia, por un lado, o *R. sticticum* desde la Península Ibérica hasta el sur de Italia, por otro) o están separadas por masas de mar estrechas (*R. siculum* y *R. sticticum* a ambos lados del Estrecho de Gibraltar). De igual modo, las poblaciones separadas por extensiones de mar mayores, pero de costas relativamente próximas, también tienen niveles bajos o intermedios de diferenciación genética (*R. septemdentatum* de Malta y Sicilia, o *R. septemdentatum* y *R. sticticum* de la Península Ibérica y de Mallorca), mientras que las poblaciones de zonas separadas por cientos o miles de kilómetros de mar, con distribuciones disyuntas, muestran una gran diferenciación genética, sobre todo en islas (*R. siculum* de Sicilia por un lado, y de la Península Ibérica y del norte de África, por otro, o *R. sticticum* y *R. septemdentatum* de distintas islas mediterráneas, como Mallorca y Sicilia) (**Capítulo 2**). Patrones de distribución similares han sido descritos en estudios de colonización de islas y de patrones de aislamiento, siendo las más próximas al continente las que son colonizadas más fácilmente, y siendo más frecuente el intercambio de especies entre islas más próximas (Whittaker & Fernández-Palacios, 2006; Spengler *et al.*, 2011; Vargas *et al.*, 2015).

Para interpretar los, en general, bajos niveles de aislamiento de las poblaciones de *Rhodanthidium*, se han analizado sus posibles causas biológicas. En el caso de las tres especies de *Rhodanthidium* estudiadas, todas tienen una gran capacidad de vuelo (Nachtigall, 1997a; Erbar & Leins, 2017; Romero *et al.*, 2020d), lo que seguramente ha contribuido a su distribución, amplia y continua, en Europa continental (*R. septemdentatum* y *R. sticticum*) y el norte de África (*R. siculum* y *R. sticticum*). No obstante, no es suficiente con la alta dispersabilidad de las especies, es necesario, también, que sean capaces de

establecerse, para que la colonización sea exitosa. En este sentido, la amplia extensión del clima mediterráneo en las áreas mencionadas y las preferencias climáticas de las especies (**Capítulo 3**) han facilitado la colonización de *R. septemdentatum* y *R. sticticum* por el sur de Europa. Es más, en el caso de *R. septemdentatum*, debido a su mayor tolerancia ambiental, la especie está presente en Centroeuropa. A diferencia de lo que ocurre con *R. sticticum*, que está ligada a unas condiciones mediterráneas típicas (Romero *et al.*, 2020a), *R. septemdentatum* tolera temperaturas más bajas y mayor continentalidad. Las muestras de *R. septemdentatum* de Europa Central pertenecen a los haplogrupos 4 y 5 (los haplogrupos predominantemente ibérico-baleares y sicilianos) (**Capítulo 2**), lo que refuerza la idea de una distribución continua de la especie e indica una mezcla de las poblaciones de las zonas del sur (Lai & Pullin, 2004; Hofman *et al.*, 2007; Dinca *et al.*, 2011; Cox *et al.*, 2019). Es más, las poblaciones de *R. septemdentatum* aún se están extendiendo por Centroeuropa (Bogusch *et al.*, 2020). Por el contrario, *R. siculum* está asociado a un clima mediterráneo más cálido y seco (**Capítulo 3**) y, a diferencia de las otras dos especies de *Rhodanthidium*, no ha sido capaz de colonizar áreas más norteñas y no presenta una distribución continua en Europa, viéndose aislada en la Península Ibérica y en algunas islas mediterráneas como Sicilia y Malta (Neumann & Seidelmann, 2006; Soro *et al.*, 2010). Como consecuencia, apenas ha habido intercambio genético entre las poblaciones de Sicilia y de Malta con el resto, lo que ha conducido a la situación actual, con dos haplogrupos divergentes y muy bien definidos (**Capítulo 2**).

Para explicar los eventos dispersivos a larga distancia y la posterior colonización salvando barreras biogeográficas, son numerosos los factores que se han postulado como posibles causas, entre los que destacan el arrastre de ejemplares por fuertes vientos, balsas vegetales a la deriva, corrimientos de tierra o introducciones humanas involuntarias (Glor *et al.*, 2005; Spengler *et al.*, 2011; de Sosa *et al.*, 2017; García-Olivares *et al.*, 2017). Asimismo, estos acontecimientos de dispersión pasiva han sido descritos para numerosas especies, incluyendo especies de abejas (Roubik & Camargo, 2012; Groom *et al.*, 2013; Vargas *et al.*, 2015). Teniendo esto en cuenta, las distancias geográficas entre poblaciones genéticamente conectadas de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* son relativamente cortas (14,3 km en el Estrecho de Gibraltar, 81 km entre Sicilia y Malta o entre 170 y 200 km entre Mallorca y la Península Ibérica), en comparación con, por ejemplo, las distancias entre las

islas oceánicas y el continente, lo que hace posible un intercambio genético más o menos constante (**Capítulo 2**). Por tanto, la dispersión es posible, pero la cuestión que queda por ver es, hasta qué punto, el establecimiento de las especies de *Rhodanthidium* depende de sus requerimientos ecológicos para que se de una colonización exitosa.

En esta misma línea, uno de los aspectos ecológicos más interesantes que podrían haber contribuido al establecimiento de poblaciones de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* tras atravesar largas distancias es el uso de conchas de Gasterópodos. Las tres especies hacen uso de conchas vacías para nidificar y refugiarse, durante la noche o frente a condiciones adversas (**Capítulo 3, 5**), un comportamiento que, de hecho, facilita que amplíen su distribución en áreas con poblaciones abundantes de Gasterópodos y una gran disponibilidad de conchas vacías (Bogusch *et al.*, 2020). Teniendo esto en consideración, las conchas ofrecen protección frente a variadas adversidades, como el calor extremo, las inundaciones, la depredación y el parasitismo (Müller *et al.*, 2018). De este modo, frente a las lluvias torrenciales, tan frecuentes en la región mediterránea (Pastor *et al.*, 2001), las especies nidificantes en caracoles tendrán una mayor probabilidad de supervivencia, ya que tendrán un riesgo de ahogamiento menor que las especies nidificantes en suelo. En estas situaciones, las conchas de Gasterópodos, con nidos o ejemplares adultos de alguna de las tres especies de *Rhodanthidium*, pueden ser arrastradas, junto con barro, rocas y restos vegetales, por las ramblas y torrentes, hasta el mar, formando balsas que pueden ir a la deriva durante días, hasta llegar a alguna costa, como de hecho ocurre con individuos vivos de Gasterópodos (Smith & Djajasmita, 1988; Dörge *et al.*, 1999; Ozgo *et al.*, 2016; Uit de Weerd *et al.*, 2016). En el lugar de arribada, los ejemplares errantes de *R. septemdentatum*, *R. siculum* o *R. sticticum* encontrarán, posiblemente, condiciones adecuadas (clima mediterráneo, sustrato calizo con abundancia de conchas de caracoles) y, presumiblemente, poblaciones de su misma especie, en las que mezclarse y contribuir a su diversidad genética. Dado que la nidificación en conchas de Gasterópodos es relativamente frecuente en especies del género *Osmia* (Müller *et al.*, 2018), futuros estudios en la estructura geográfica de dichas especies podrán corroborar si, efectivamente, este comportamiento es una ventaja en términos de dispersión por mar a larga distancia.

Distribución potencial modelizada de las especies ibéricas de *Rhodanthidium*

La historia geológica del Mediterráneo, las características biológicas y los requerimientos ecológicos de las especies modelaron la historia evolutiva y dispersiva de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* (**Capítulo 2**) lo que, a su vez, condicionó la distribución actual de las especies, pero los resultados presentados en esta investigación muestran que los **requerimientos climáticos** y la presencia de **conchas vacías de Gasterópodos** son los principales factores limitantes de la misma. Dada la polilectia de estas especies de Apoideos (**Capítulo 4, 5**; Bosch *et al.*, 1993; Torné-Noguera *et al.*, 2014), no se observó dependencia de ningún grupo o especie de plantas con flores concreto, por lo que la abundancia de las numerosas especies de plantas nutricias no parecen jugar un papel esencial en la distribución de las especies de *Rhodanthidium* de los caracoles.

A escala local, la distribución actual conocida de los tres representantes de *Rhodanthidium* estudiados cubre zonas del sur, este y centro de la Península Ibérica y de las islas Baleares (se encuentran principalmente sobre sustratos calizos y arcillosos), que presentan una gran diversidad y abundancia de Gasterópodos (**Capítulo 3**). Los valores de temperatura y precipitación, correspondientes a los de regiones de clima mediterráneo (De Castro *et al.*, 2005), son responsables, en gran medida, de los patrones de distribución de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum*, pero pueden observarse algunas diferencias entre las tres especies. Los resultados de los modelos muestran que, de ellas, *R. siculum* es la que presenta un área adecuada más pequeña, en el sur de la Península Ibérica. Esto se debe a que tiene preferencia por unas condiciones mediterráneas más áridas (más cálidas y secas) que las otras dos especies de *Rhodanthidium* y tolera un rango de valores óptimo más estrecho. Sus preferencias climáticas explican la escasez de *R. siculum* en la Península Ibérica, frente a su aparente abundancia en el norte de África y Sicilia (Erbar & Leins, 2017; Kasperek, 2019). Sin embargo, los rangos de valores idóneos de temperatura y precipitación para *R. septemdentatum* y *R. sticticum* encajan en el clima mediterráneo clásico, lo que se ve reflejado en poblaciones más numerosas y extendidas en la Península Ibérica, aunque con pequeñas diferencias (*R. septemdentatum* tolera más humedad y continentalidad).

Por otro lado, y llegados a este punto, cabe recordar que los modelos de distribución de especies (SDMs) son simplificaciones de la realidad, donde operan un gran número de variables conocidas y desconocidas. Por lo tanto, las decisiones que toman los investigadores, relativas a los parámetros, algoritmos y variables utilizadas, pueden tener un gran impacto en los resultados obtenidos (Elith & Graham, 2009; Dormann *et al.*, 2012). Pese a ello, los modelos climáticos generados para este trabajo son lo suficientemente precisos y reflejan adecuadamente la distribución de las especies de *Rhodanthidium* analizadas.

A una mayor escala, las diferencias que se establecen en los valores óptimos, bajo los que prosperan las tres especies de *Rhodanthidium* a escala local (Península Ibérica y Baleares), se ponen de manifiesto en su distribución completa. *Rhodanthidium siculum* se extiende por el Magreb (Marruecos, Argelia y Túnez), Sicilia y el sur de la Península Ibérica (Ornosa *et al.*, 2008; Ornosa & Ortiz-Sánchez, 2014f), zonas que presentan un tipo de clima mediterráneo muy cálido y seco. En cuanto a *R. sticticum*, podría considerarse una especie de afinidades intermedias, con su rango de distribución extendiéndose por el norte de África y Europa suroccidental, incluyendo el sur de Francia, las penínsulas Ibérica e Itálica y numerosas islas del Mediterráneo, donde se da un clima mediterráneo clásico. Por último, *R. septemdentatum* es la especie con una distribución más amplia de las tres, desde Portugal hasta Irán por el este y Europa Central por el norte (Ornosa *et al.*, 2008; Kasperek, 2017), llegando a áreas geográficas mucho más continentales y menos cálidas, aunque no está presente en el norte de África. De este modo, puede verse una transición entre las especies, con *R. siculum* mostrando una clara preferencia por condiciones más cálidas y secas, siendo *R. septemdentatum* la que mejor sobrevive frente a los amplios cambios estacionales de temperatura y precipitación propios de un mediterráneo más continental y estando *R. sticticum* limitada a un clima mediterráneo más suave, típico y próximo a las costas (**Capítulo 3**). Estas preferencias condicionaron la expansión de las especies en el pasado, desde sus refugios glaciales, como se ha explicado previamente (**Capítulo 2**).

Uso de conchas de Gasterópodos

La presencia de conchas de Gasterópodos es clave para la reproducción y la supervivencia de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* y condiciona sus distribuciones, al menos, en la Península Ibérica (**Capítulo 3, 5**). A este respecto, entre los resultados obtenidos, se halla la descripción del uso de conchas de caracol por individuos de *Rhodanthidium* no solo para nidificar, sino también como **refugio** durante la noche o frente a condiciones atmosféricas adversas (**Capítulo 3**). Pese a la existencia de descripciones detalladas de este uso por distintas especies del género (Pasteels, 1977; Erbar & Leins, 2017), su utilización como refugio no había sido descrita previamente. Sin embargo, en las sucesivas campañas de muestreos realizadas, se ha constatado que los adultos de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* se esconden en el interior de conchas de Gasterópodos por la noche y para guarecerse de la lluvia, el frío y el viento. Asimismo, se conocía que *R. sticticum* es una especie activa, exclusivamente, en días soleados (Torres *et al.*, 2001), lo que se corrobora con las observaciones hechas en este trabajo (**Capítulo 5**), pero no se conocía ninguna información publicada sobre *R. septemdentatum* y *R. siculum* a este respecto. Por otro lado, aunque son varias las especies de Artrópodos terrestres que usan conchas de caracol como nidos y refugios (Trpis, 1973; Gess & Gess, 1999, 2008, 2014; Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Aguib *et al.*, 2017; Erbar & Leins, 2017), este último uso es un comportamiento raramente descrito en abejas. Los únicos registros son de las especies *Afranthidium hamaticauda* Pasteels, 1984, *A. odonturum* (Cockerell, 1932) (Gess & Gess, 1999, 2008, 2014) y *Hoplitis conchophila* Kuhlmann, 2011 (Kuhlmann *et al.*, 2011). Sin embargo, en esos casos, los autores no proporcionaron ninguna información acerca de las condiciones ambientales o el momento del día en que esas especies utilizan las conchas, pero, considerando la ubicación de los registros (en el desierto de Namibia), lo más probable es que las usen para refugiarse del calor en las horas centrales del día, evitar depredadores y dormir durante la noche. En el caso de *R. septemdentatum* y *R. sticticum*, se ha constatado que los ejemplares se esconden en conchas de caracol para pasar la noche, mientras que los machos, además de ahí, también duermen en la parte inferior de las flores. Según varios autores, *R. sticticum* es nidificante obligado de conchas de caracol (Bosch *et al.*, 1993; Müller *et al.*, 2018) y, considerando los comportamientos homólogos de las tres especies, se puede asumir que *R. septemdentatum* y *R. siculum*

también lo sean y dependan, para su supervivencia, de la presencia de conchas vacías para refugiarse y nidificar (**Capítulo 3**).

En otro orden de cosas, si se atiende al uso de conchas de Gasterópodos para nidificar y refugiarse, este comportamiento en Apoideos es exclusivo de la familia Megachilidae, y solo se da en unos pocos géneros y especies de las tribus Anthidiini y Osmiini (Pasteels, 1977; Gess & Gess, 1999, 2008, 2014; Cane *et al.* 2007; Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Kuhlmann *et al.*, 2011; Müller & Mauss, 2016; Müller *et al.*, 2018). Entre los integrantes de la tribu Osmiini, este comportamiento es relativamente frecuente, ha evolucionado de manera independiente en, al menos, 12 ocasiones, y se extiende por 56 especies pertenecientes a cuatro géneros y 14 subgéneros (Müller *et al.*, 2018). En la historia evolutiva de la tribu Anthidiini, en cambio, solo hay constancia de que haya aparecido en tres ocasiones independientes: una vez en el género *Rhodanthidium* (en cuatro especies) y dos veces en el género *Afranthidium* (en los subgéneros *Afranthidium* y *Oranthidium*) (Gess & Gess, 1999, 2008) (**Capítulo 1**).

Curiosamente, en este estudio, y a pesar del fuerte carácter territorial de estas especies, el 30% de los ejemplares de *R. sticticum* capturados dentro de conchas de caracol compartían refugio y, en su mayoría, eran machos, algo parecido a lo que ocurría con *R. siculum*, pero en menor medida (**Capítulo 3, 5**). Las razones pueden ser diversas: individuos compartiendo la misma concha de la que nacieron (filopatría), una alta densidad de población y poca disponibilidad de conchas (lo que les obligaría a compartir el recurso), o la necesidad de encontrar un refugio rápido ante cambios meteorológicos bruscos. El hecho de que principalmente sean machos los que comparten guarida probablemente se deba a que se encuentran en mayor proporción que las hembras, en una ratio (tres machos por cada hembra) diferente a la de otras especies de Anthidiini (por ejemplo, *Anthidium florentinum*, Fortunato *et al.*, 2013). En este contexto, se han observado hasta seis machos de *R. sticticum* guarecidos en una misma concha, a individuos de *R. sticticum* y *R. siculum* compartiendo un caracol e incluso a individuos de *R. sticticum* junto con ejemplares del género *Osmia* (**Capítulo 3, 5**).

Las preferencias de las especies de *Rhodanthidium* de los caracoles por unas conchas u otras están aún por determinar, ya que se ha comprobado que las diferentes especies de

Gasterópodos son usadas en distinta proporción, aunque parece que el tamaño y el buen estado de las mismas es determinante para otras especies de abejas asociadas a conchas (Kandori *et al.*, 2010). Una de las especies de Gasterópodos terrestres cuyas conchas son más usadas por Artrópodos, al menos en la zona mediterránea, es *Sphincterochila candidissima* (Moreno-Rueda *et al.*, 2008), que es la más utilizada, también, por *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* en la Península Ibérica (**Capítulo 3**). Las conchas del género *Sphincterochila* son escogidas, frecuentemente, por diversas especies de Osmiini en Europa y en el Mediterráneo (Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Müller *et al.*, 2018), en tanto que los integrantes de los Osmiini de otras partes del mundo aprovechan conchas de otras especies de Gasterópodos (Norteamérica: Rau, 1937; Cane *et al.*, 2007; Japón: Kandori *et al.*, 2010; Turquía: Özbek, 2013). En el caso de las especies de caracol usadas por *Rhodanthidium* en la Península Ibérica, e identificadas en este trabajo (*Eobania vermiculata*, *Otala lactea*, *Otala punctata* y *Theba pisana*), cuyo uso mayoritario confirma las observaciones hechas previamente por otros autores (Xamheu, 1896; Ferton, 1908; Pasteels, 1977; Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Erbar & Leins, 2017), se encuentran otras que al igual que *S. candidissima* se distribuyen por ambientes mediterráneos áridos, adaptados a niveles bajos de humedad y a altas temperaturas (Gasull, 1975; Moreno-Rueda & Collantes-Martín, 2007; Moreno-Rueda *et al.*, 2008). Estas especies, como la mayoría de los Gasterópodos terrestres, prosperan en zonas calizas, debido a la mayor disponibilidad del calcio que necesitan ingerir para desarrollar sus conchas (Wäreborn, 1970; Ireland, 1991). Más allá de las especies identificadas, otros Gasterópodos con requerimientos ecológicos, características y distribuciones similares (Gasull, 1975) podrían ser utilizados y, con toda probabilidad, lo son, en la Península Ibérica, por las especies de *Rhodanthidium* de los caracoles para nidificar y refugiarse, como de hecho hacen en otras zonas de su área de distribución (Lucas, 1846; Ferton, 1911) (**Capítulo 3**).

Distribución conjunta de *Rhodanthidium* y Gasterópodos

En general, la distribución de las especies a gran escala está condicionada por el clima (Blundo *et al.*, 2012; Bucklin *et al.*, 2015), pero las distribuciones a nivel regional y local se ven afectadas en mayor o menor medida por otros factores, incluyendo variables bióticas, como el sustrato de nidificación o las plantas nutricias (Austin & Van Niel, 2010; Pollock *et*

al., 2014). La presencia de conchas de caracol es, como se ha visto en el apartado anterior, imprescindible para la supervivencia de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* y parece ser uno de los principales factores limitantes en la distribución de estas tres especies a escala peninsular (**Capítulo 3**). En concreto, las especies de Gasterópodos estudiadas fueron *Eobania vermiculata*, *Otala lactea*, *Otala punctata*, *Sphincterochila candidissima* y *Theba pisana*. Diversos estudios comparativos entre SDMs, incluyendo solo variables climáticas, y SDMs que englobaban, además, variables bióticas, ya habían demostrado que las interacciones biológicas tienen efectos discernibles en la distribución de numerosas especies de Apoideos (Araújo & Luoto, 2007; Meier *et al.*, 2010; Giannini *et al.*, 2013a; Wisz *et al.*, 2013). En los resultados de esta investigación se muestra que, efectivamente, la presencia de *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* se ve positivamente afectada por la presencia de conchas de caracol vacías. Por el contrario, se puede asumir que las especies de Gasterópodos a las que pertenecen dichas conchas no se verán afectadas por la presencia o ausencia de poblaciones de *Rhodanthidium* en la zona, ya que el uso de las conchas ocurre una vez que los caracoles han muerto. En consecuencia, las especies de caracoles terrestres implicadas son elementos bióticos independientes, cuyas distribuciones pueden ser usadas como variables bióticas en los modelos (**Capítulo 3**).

La distribución conjunta de especies (JSDMs, en este caso, de los tres representantes de *Rhodanthidium* y las especies de Gasterópodos que emplean) puede deberse a una respuesta común ante unas mismas condiciones ambientales (componente ambiental), pero también puede deberse a otras causas, como a una historia evolutiva común o a interacciones bióticas (componente residual) (Pollock *et al.*, 2014). En el caso de *R. sticticum*, el componente ambiental de la distribución conjunta con el resto de las especies (*R. septemdentatum*, *R. siculum* y las cinco especies de Gasterópodos) resultó ser negativo, indicando que esta presencia conjunta debe ser explicada por otros factores y no por las variables ambientales analizadas (de temperatura y precipitación). Para *R. septemdentatum*, se obtuvieron resultados similares con las especies *Eobania vermiculata* y *Sphincterochila candidissima*, por lo que se deduce que el componente ambiental no explica por sí mismo la distribución conjunta de esas especies. En cambio, el componente ambiental entre *R. siculum* y las especies de Gasterópodos fue positivo y alto, explicándose, por tanto, la

presencia conjunta como una respuesta común a las variables ambientales analizadas (**Capítulo 3**).

Volviendo al **componente residual** de la distribución conjunta, entre *R. sticticum* y *R. septemdentatum*, lo más probable es que responda a dos factores: a una historia evolutiva compartida o a una respuesta común a otras variables ambientales no analizadas. En el primer caso, esta idea se ve reforzada por los resultados presentados en este estudio, que muestran que ambas especies están estrechamente emparentadas (**Capítulo 1**) y que se distribuyeron por las penínsulas e islas del sur de Europa durante las últimas épocas geológicas (**Capítulo 2**). Por otro lado, las variables ambientales analizadas en este trabajo son las más habituales y, en general, las más explicativas en estudios de SDMs, pero no las únicas. Otras variables abióticas que podrían tener un efecto, dadas las preferencias ambientales de las dos especies de *Rhodanthidium*, podrían ser la cantidad de radiación solar recibida y la distribución de sustratos calizos, pero esto deberá ser comprobado en futuras investigaciones. En lo concerniente a *R. siculum* con las otras especies de *Rhodanthidium*, no aparecen unos valores de presencia conjunta significativos o detectables por los análisis empleados. La capacidad de dispersión de las especies o la competencia entre ellas podrían ser también factores bióticos que faciliten o impidan su coexistencia pero, pese a que se da competencia entre *R. septemdentatum* y *R. sticticum* (Kasperek, 2019), no aparenta ser un impedimento para la cohabitación entre ambas especies.

Para terminar de exponer esta interacción biótica cabe decir que, atendiendo al índice de coexistencia de Schoener, la presencia conjunta de las especies analizadas de Apoideos y de Gasterópodos es significativa y elevada para los tres representantes de *Rhodanthidium* y *O. lactea*, *E. vermiculata* y, sobre todo, *S. candidissima* (**Capítulo 3**). De hecho, esta última especie no es solo la que presenta unos mayores niveles de distribución conjunta con *R. septemdentatum*, *R. siculum* y *R. sticticum* sino que, además, es la que tiene un componente residual mayor con ellas. Como se ha explicado anteriormente, las conchas de *S. candidissima* son de las más utilizadas por distintos Artrópodos como nidos y refugios (Moreno-Rueda *et al.*, 2008; Müller *et al.*, 2018). *Sphincterochila candidissima* se distribuye por toda la costa mediterránea de la Península Ibérica, donde *R. sticticum*, *R. septemdentatum* y *R. siculum* tienen el grueso de sus poblaciones y posiblemente, a escala local, dependan de ella más que de otras especies de Gasterópodos.

Papel ecológico de *Rhodanthidium sticticum*: generalista y conector de redes de polinización

Este apartado y los siguientes se centran en el estudio de la biología, comportamiento y papel ecológico de *Rhodanthidium sticticum*, principalmente, como especie representativa de *Rhodanthidium*.

Los resultados obtenidos en este trabajo indican una baja especificidad hacia especies concretas de plantas (**Capítulo 4, 5**), de acuerdo con estudios previos que también señalaban a *R. sticticum* como una especie **generalista** (Bosch *et al.*, 1993; Aguib *et al.*, 2010; Torné-Noguera *et al.*, 2014). La especialización u oligolectia es, de hecho, un fenómeno relativamente raro (Cane & Sipes, 2006; González-Varo *et al.*, 2016) y puede afirmarse que no es el caso de *R. sticticum*. Es, por tanto, una especie de abeja **poliléctica** (Bosch *et al.*, 1993; Müller, 1996), pese a mostrar mayor preferencia por especies de plantas con **flores melitófilas** (especializadas en la polinización por abejas), como las de la familia Papilionaceae y las de los géneros *Antirrhinum* o *Linaria*, así como por flores con corolas tubulares alargadas, como las que poseen las Labiadas (**Capítulo 5**). Las plantas de estas familias y géneros, en especial las melitófilas, presentan una estructura floral que dificulta el acceso al polen y al néctar a numerosos insectos, siendo generalmente los Himenópteros los únicos capaces de abrirlas (Vargas *et al.*, 2010; Blanco-Pastor *et al.*, 2015) y, por tanto, los principales polinizadores (Vargas, 2014). En algunas ocasiones, como ocurre con los dragoncillos (género *Antirrhinum* y parientes próximos), la recompensa floral está protegida por corolas ocluidas, por lo que solo las abejas pueden acceder. Nos encontramos en una situación en la que las abejas son generalistas, aunque con ciertas preferencias, pero las flores de los dragoncillos están muy especializadas en una polinización por abejas (Vargas *et al.*, 2010; Vargas *et al.*, 2017). En concreto, las hembras de *R. sticticum* deben ser más eficaces, pues mueven el polen entre las flores tras la ingesta y la recolección de polen y néctar. Es particularmente destacable, además, la preferencia que muestra *R. sticticum* por las flores de varias especies de ***Antirrhinum*** a lo largo de toda su distribución y no solo en la Península Ibérica (**Capítulo 5**).

Dentro de las redes de interacción (polinización) ibéricas estudiadas en profundidad (zonas de Buendía, Énix, Gabasa y Nuévalos), los resultados muestran que todas las especies

de *Antirrhinum* implicadas son periféricas (**Capítulo 4**), categoría en la que se incluyen, habitualmente, plantas muy especializadas o especies raras y poco abundantes, que atraen a una baja diversidad de visitantes (Vargas *et al.*, 2017). Esto se debe, claramente, a la estructura floral de los dragoncillos, con una corola ocluida que excluye a la mayor parte de visitantes florales y les impide acceder al polen y al néctar, como se explicó en el párrafo anterior (Guzmán *et al.*, 2015). Las especies periféricas, como los distintos representantes de *Antirrhinum* estudiados, suelen depender de visitantes generalistas, como *R. sticticum*, para su polinización y, por tanto, para lograr su supervivencia (Vargas *et al.*, 2010). De hecho, los Apoideos en conjunto actúan como polinizadores generalistas dentro de sistemas especializados, como los de *Antirrhinum*, *Linaria* y otras especies de Antirrhineae (Guzmán *et al.*, 2017). Otros Apoideos presentes en las cuatro redes ibéricas, como *Colletes albomaculatus* en Buendía, *Andrena boyerella* en Gabasa o *Hoplitis adunca* en Buendía y Gabasa, se encuentran entre los polinizadores que mayor número de visitas realizaron, pero únicamente a una o dos especies de plantas generalistas de corola abierta, lo que refuerza la idea de que los especialistas se conectan estrechamente con generalistas, ya sean plantas o polinizadores (**Capítulo 4**).

A diferencia de lo que ocurre con las especies de *Antirrhinum*, los resultados obtenidos en esta investigación muestran que *R. sticticum* tiene un papel ecológico relevante en todas las redes ibéricas estudiadas. El trabajo realizado es uno de los primeros que analizan los roles funcionales de especies concretas de Apoideos (solo había sido estudiado en detalle en abejas de la tribu Centridini, Mello *et al.*, 2013), siendo el rol de *R. sticticum* el de **conector** en tres de las redes y **nexo de red** en la cuarta (**Capítulo 4**). Además, en términos cuantitativos, es el segundo visitante floral más importante por número de visitas en dos de las redes (de Énix y Nuévalos), solo por detrás de *Apis mellifera*, y el cuarto en Buendía, sin contar a especies oligoléticas como *Colletes albomaculatus*, *Heriades crenulatus* y *Hoplitis adunca*, que realizaron un gran número de visitas, pero a especies de plantas muy concretas (**Capítulo 4**). Las especies generalistas, como *R. sticticum*, funcionan como piedras angulares de las redes de polinización (González *et al.*, 2009) y, como muestran los resultados obtenidos, *R. sticticum* es el visitante que interactúa con un mayor número de especies en tres de las cuatro redes. Aunque una especie generalista podría no ser un conector, dependiendo de la estructura y composición de la red, no es el caso de *R. sticticum*, que es

ambas, generalista y conector, funcionando como nexo de distintos módulos y siendo esencial para la estructura y el funcionamiento de las comunidades en las que está (Olesen *et al.*, 2007). La importancia de los conectores radica en que la mayoría de las especies de una red actúan dentro de su propio módulo, pero estos operan a un nivel estructural mayor y definen las relaciones que se establecen entre los módulos. Su presencia sincroniza la ecología de los módulos individuales, ya que de esta manera cualquier información o perturbación que afecte a la red es transmitida a otros módulos a través de la actividad de los conectores (Olesen *et al.*, 2018).

Además de tener un papel fundamental, a nivel ecológico, para las redes de polinización, *R. sticticum* también tiene un rol crucial para la supervivencia de varias especies de Antirrhineae (Blanco-Pastor *et al.*, 2015; Vargas *et al.*, 2017). Concretamente, *R. sticticum* es clave en la polinización de cinco especies de *Antirrhinum*, incluyendo dos en peligro de extinción (Vargas *et al.*, 2017), y de cuatro especies de *Linaria* endémicas o amenazadas en la Península Ibérica (Blanco-Pastor *et al.*, 2015). Estas especies, aparte de ser autoincompatibles (Blanco-Pastor & Vargas, 2013) y, por tanto, necesitar polinización cruzada, tienen corola ocluida. A pesar de estas aparentes restricciones o dificultades para una polinización exitosa, las poblaciones de dragoncillos consiguen una alta tasa de reproducción y una considerable viabilidad en sus semillas, gracias a la efectividad como polinizador de *R. sticticum* (Vargas *et al.*, 2010). A diferencia de las mencionadas *Antirrhinum* y *Linaria*, la mayor parte de las plantas visitadas por *R. sticticum* no son especialistas y, a priori, no tienen limitación en los polinizadores en cuanto al número de especies visitantes, pero sí podrían ver limitada su polinización en cuanto a la abundancia total de polinizadores. No obstante, a escala local, *R. sticticum* es una de las especies más abundantes, pudiendo llegar a ser la principal especie de abeja de *lengua larga*, en cuanto a tamaño poblacional, de toda la comunidad de Apoideos (Torné-Noguera *et al.*, 2014). Esto parece indicar que, de momento, su papel funcional como conector en comunidades mediterráneas y su función como polinizador de Antirrhineae son estables y no se encuentran amenazados (**Capítulo 4**). A tenor de todo lo explicado, y teniendo en cuenta las características morfológicas y biológicas de *R. sticticum*, su importante papel ecológico y evolutivo se debe, probablemente, a su alta movilidad, su rápido vuelo y su aparato bucal de lengua larga, lo que le permite el acceso al polen y al néctar de numerosas plantas. Estos rasgos, y su

capacidad para visitar plantas con formas florales muy diferentes, definen su posición en las redes de polinización estudiadas y lo convierten, como ya se ha dicho, en un importante **conector** entre módulos.

Desde un punto de vista más amplio a nivel geográfico, se ha determinado que *R. sticticum* y otras especies de Anthidiini forman parte de 14 de las 51 redes de polinización estudiadas por Olesen *et al.* (2007), cuya modularidad se ha analizado en la presente memoria. De esas 14 redes, todas excepto una se ubican en zonas templadas y en ellas se han identificado dos especies de *Anthidium* (*A. chilensis* y *A. latreillei*) y otra de *Rhodanthidium*, *R. septemdentatum*, como conectores (**Capítulo 4**). El caso de *R. septemdentatum* es particularmente interesante ya que, a tenor de los parámetros de modularidad, es un conector en dos redes mediterráneas, una de Grecia continental y otra de Mallorca, en las que no está presente *R. sticticum*. Sin embargo, cuando aparece junto a *R. sticticum*, como sucede en tres de las cuatro redes ibéricas analizadas (de Gabasa, Buendía y Nuévalos), pierde su relevancia ecológica y pasa a ser una especie periférica. En este contexto, el único estudio existente sobre las abundancias locales de *R. septemdentatum* y *R. sticticum* mostraba que la primera era ocho veces más escasa que *R. sticticum* (Torné-Noguera *et al.*, 2014), lo que podría explicar por qué cuando ambas especies están presentes en la misma red, una de ellas (*R. sticticum*) supera a la otra (*R. septemdentatum*) y desplaza su papel ecológico (**Capítulo 4**). Por otro lado, pese a la agresividad y fiereza de *R. septemdentatum* (Nachtigall, 1997a, b), hay registros de ejemplares de *R. sticticum* atacando y robando conchas de caracol a *R. septemdentatum*, que ya habían sido preparadas para la puesta (Schremmer, 1960; Kasperek, 2019) lo que, unido a su mayor número, refuerza la idea de que una especie sustituye el papel ecológico dominante de la otra, aunque ambas puedan coexistir y, de hecho, lo hagan en gran parte de su distribución. La biología y, en particular, el comportamiento de *R. sticticum*, que será discutido en detalle a continuación, son similares a los de otros Anthidiini (en especial a otras especies del género *Rhodanthidium* y al género *Anthidium*). Esto lleva a hipotetizar que las abejas de este grupo tienen un papel ecológico similar, que abarca desde el nivel de especie al de tribu.

Otros aspectos de la biología de *Rhodanthidium sticticum*: fenología, vuelo, territorialidad y reproducción

Con toda seguridad, se puede afirmar que el uso de conchas de caracol y su importancia ecológica como polinizador, de los que se ha tratado largo y tendido en los apartados anteriores, son dos de los aspectos más destacables de la biología de *Rhodanthidium sticticum*, pero eso no le resta interés a otras particularidades de su comportamiento y de su historia natural.

En cuanto a la **fenología**, *R. sticticum* es una abeja muy activa durante el periodo de floración (generalmente de marzo a junio, aunque en zonas más cálidas es frecuente observarla ya en febrero) (Vargas *et al.*, 2010). La mayoría de los registros fueron tomados entre marzo y mayo, llegando hasta mediados de junio (**Capítulo 5**), coincidiendo con los datos obtenidos por otros autores para otras áreas de la distribución de *R. sticticum* (Marruecos, Argelia y Sicilia: Kasperek & Lhomme, 2019; Argelia: Aguib *et al.*, 2010). No obstante, Kasperek (2019) afirma que *R. sticticum* es una especie de principios de primavera y finales de otoño con, posiblemente, dos generaciones anuales y que en España ha sido encontrada en octubre y noviembre. Esta afirmación no aparece sustentada ni por la bibliografía ni por los registros de colecciones, pues no se ha obtenido ningún dato de recolección más allá de junio. Teniendo en cuenta, pues, todas las informaciones ya publicadas, las colecciones y los datos obtenidos en las campañas de muestreo, se puede aseverar que *R. sticticum* es una especie **univoltina de primavera**, como *R. septemdentatum*, *R. siculum* (Pasteels, 1977; Erbar & Leins, 2017) y otras especies de Anthidiini (por ejemplo, *A. florentinum*, Fortunato *et al.*, 2013). El periodo de vuelo de *R. sticticum* empieza pronto y es relativamente largo, parecido en duración al de *R. septemdentatum* (aunque el de *R. septemdentatum* empieza y acaba más tarde), pero más largo que el de *R. siculum* (Ortiz-Sánchez, 1990; Aguib *et al.*, 2010; Erbar & Leins, 2017; Kasperek, 2019), probablemente debido a que, como se ha visto en apartados anteriores, *R. siculum* está adaptado a climas más cálidos y su periodo óptimo es más corto que el de las otras especies de *Rhodanthidium* (**Capítulo 3**).

Durante el periodo de actividad de *R. sticticum*, tanto machos como hembras de la especie pueden verse volando a considerable velocidad y con gran precisión, con una

habilidad similar a la descrita para *R. septemdentatum* (Nachtigall, 1997a). Se puede inferir que sus habilidades de vuelo son tan destacables gracias, en gran medida, a su desarrollado sentido de la vista. A este respecto, son pocos y muy recientes los estudios concernientes a la vista y la percepción en abejas solitarias (Loukola *et al.*, 2020), pero diversos trabajos en abejorros han confirmado las habilidades de aprendizaje y la precisión de estos Apoideos a la hora de distinguir formas y colores (Giurfa *et al.*, 1995; Spaethe *et al.*, 2001; Dyer & Chittka, 2004; Solvi *et al.*, 2020). El comportamiento exploratorio, observado en machos de *R. sticticum* durante los muestreos de campo (**Capítulo 5**), coincide con el descrito por Loukola *et al.* (2020) en *Osmia caerulea* (Linnaeus, 1758) y *O. leaiana* (Kirby, 1802), a partir de observaciones, durante las exploraciones de estas dos especies en la búsqueda de sitios adecuados para construir sus nidos.

Como ya se ha comentado en el párrafo anterior, los machos de *R. sticticum* llevan a cabo continuos vuelos exploratorios (**Capítulo 5**), dirigidos por una fuerte **territorialidad**, que condiciona prácticamente todos los demás aspectos de su comportamiento. Del mismo modo, como una consecuencia esperable del comportamiento territorial, los machos de *R. sticticum* son de mayor tamaño que las hembras, igual que ocurre en la mayoría de las especies de Anthiini (García-González & Ornos, 1999; Michener, 2007; Erbar & Leins, 2017). Un mayor tamaño corporal les permite conseguir y defender mejores territorios, frente a machos de la misma especie o a individuos de otros visitantes florales (Severinghaus *et al.*, 1981; Villalobos & Shelly, 1991). La defensa del territorio no es una característica única del género *Rhodanthidium* y está muy extendida entre las diferentes especies de Anthiini (Michener, 2007), pero con características propias en cada caso. En lo concerniente a *R. sticticum*, en su selección de territorios, muestra una clara preferencia por zonas con predominancia de flores de corola tubular, que son consideradas más melitófilas (**Capítulo 4, 5**), preferencias que también han sido descritas para *Anthidium maculosum* (Alcock *et al.*, 1977), *A. septemspinosum* (Sugiura, 1991), *Anthidiellum notatum* y *A. perplexum* (Turell, 1976). Este tipo de corolas impiden o dificultan que las hembras puedan ver a los machos colindantes, que intentan copular con ellas, y dificultan que estas puedan escapar. Además, estas flores, sobre todo las de corola ocluida como los dragoncillos, al impedir el acceso al polen y al néctar a una gran mayoría de visitantes florales, son un recurso más codiciado por las hembras que otras flores de corola abierta en las que puede haber competencia o

haberse agotado el néctar (Vargas *et al.*, 2010). No obstante, pese a la abundancia de flores de *Antirrhinum microphyllum* con corolas tubulares en la localidad, muchos intentos de cópula observados en los muestreos de campo acabaron sin éxito, debido a la falta de receptividad de las hembras y a su rápida reacción de escapada (**Capítulo 5**), igual que ocurre en otras especies de Anthidiini (Wainwright, 1978; García-González & Ornos, 1999; Erbar & Leins, 2017). A diferencia de *R. sticticum*, *R. siculum* no defiende territorios abundantes en recursos florales, sino abundantes en conchas de caracol para nidificar (Erbar & Leins, 2017). En este caso, los machos de *R. siculum* se aprovechan de la indefensión de las hembras cuando estas se encuentran en el interior de las conchas para intentar copular con ellas.

La feroz defensa que hacen los machos de *R. sticticum* de sus territorios, persiguiendo y golpeando a los intrusos, no solo está orientada contra otros machos que puedan ser competidores reproductivos sino, también, contra individuos de otras especies (**Capítulo 5**). Este comportamiento ha sido descrito, por ejemplo, en *A. florentinum* contra *Xylocopa violacea*, una abeja considerablemente más grande y robusta (García-González & Ornos, 1999), en *A. maculosum* contra esfíngidos (Alcock *et al.*, 1977) y en *A. palmarum* contra intrusos del género *Anthophora* (Wainwright, 1978). Otros Anthidiini defienden su territorio de forma distinta, como *Anthidiellum notatum* y *A. perplexum*, de menor tamaño, que no golpean a los intrusos, pero los persiguen hasta que abandonan los territorios que defienden (Turell, 1976). En el extremo contrario están *Anthidium manicatum*, cuyos machos poseen largas espinas en la terminación del abdomen con las que pueden herir o incluso matar a los intrusos (Wirtz *et al.*, 1988), y *R. septemdentatum*, que ataca a las alas de los intrusos para hacerles caer (Nachtigall, 1997b). Este comportamiento agresivo tan extremo no fue observado, durante los muestreos de campo, en *R. sticticum* (**Capítulo 5**), pero no se descarta y, dada la coexistencia de *R. sticticum* con *R. septemdentatum*, *A. florentinum* y otros Anthidiini, las peleas territoriales entre estas especies se dan por seguras. La **territorialidad interespecífica**, como la exhibida por *R. sticticum* y el resto de las especies mencionadas, ha sido descrita como una forma de mantener alejados a los visitantes florales, competidores de las hembras por el néctar y el polen, para mantener el atractivo del territorio y mejorar así sus posibilidades de reproducción (Severinghaus *et al.*, 1981; Wirtz *et al.*, 1988).

Volviendo a la **territorialidad intraespecífica**, el hecho de que algunos machos invadan o atraviesen los territorios de otros machos puede deberse a varias razones: (1) a que sus respectivos territorios se solapen, (2) a que haya machos jóvenes o nuevos en la zona, buscando hacer suyo un territorio, y (3) a la presencia de machos errantes, oportunistas, sin territorio propio. Este último caso, ha sido descrito en *A. florentinum* (García-González & Ornos, 1999), *A. maculosum* (Alcock *et al.*, 1977), *A. manicatum* (Severinghaus *et al.*, 1981), *A. septemspinosa* (Sugiura, 1991) y *R. sticticum* (Erbar & Leins, 2017), mientras que las peleas debidas al solapamiento de territorios ocurren en *Anthidium banningtonense* (Jaycox, 1967) y cambios en la posesión de territorios, de un macho ya establecido por uno más joven o nuevo en la zona, han sido descritos en *A. manicatum* (Severinghaus *et al.*, 1981). Las tres causas parecen posibles para explicar el comportamiento territorial intraespecífico de *R. sticticum*, pero serán necesarias futuras investigaciones que incluyan medición, marcaje y seguimiento de individuos para confirmarlo.

Por último, y a diferencia de lo que ocurre en muchas especies de abejas, en el aspecto reproductivo las hembras de Anthidiini son **poliándricas** (Michener, 2007), además de caracterizarse por la exhibición de **poliginia** de defensa del recurso por parte de los machos descrita para *R. sticticum* en este trabajo. En *A. manicatum* se ha demostrado que los últimos machos que copulan con la hembra antes de que esta ponga los huevos tienen una probabilidad de haberlos fecundado por encima de la media (Lampert *et al.*, 2014), y lo mismo se ha hipotetizado para *A. florentinum* (García-González & Ornos, 1999). El comportamiento poliándrico de las hembras de *R. sticticum*, unido a la poliginia mostrada por los machos, podrían estar dirigidos, como ocurre en *A. manicatum* y con toda probabilidad en *A. florentinum*, por **competencia espermática**.

CONCLUSIONES

La **hipótesis general** de la presente memoria planteaba que “el comportamiento ecológico y la evolución de las especies de *Rhodanthidium* en general, y de *Rhodanthidium sticticum* en particular, está condicionado de manera significativa por la distribución de ciertas plantas mediterráneas, en particular de los dragoncillos de la tribu Antirrhineae (*Antirrhinum* y géneros próximos), debido a que estas abejas son sus polinizadores principales”.

Sin embargo, no se ha encontrado ningún comportamiento de gran especificidad de las especies de *Rhodanthidium* por los dragoncillos, pero sí se ha encontrado especificidad floral por las abejas, lo que supone una relación asimétrica entre las especies de *Rhodanthidium* y las de *Antirrhinum* y géneros próximos (**Capítulo 4**). No obstante, son claramente elegidas sobre otras especies de plantas de la comunidad. En cambio, la necesidad de nidificar y refugiarse en el interior de conchas de Gasterópodos relaciona estrechamente las distribuciones de las especies de abejas y de caracoles (**Capítulo 3**). Los patrones filogeográficos han resultado indicar una escasa estructuración geográfica (**Capítulo 2**), lo que es congruente con una falta de especificidad, tanto de especies concretas de plantas como de los Gasterópodos que necesitan, dado que tanto unas como otros son abundantes en todo el Mediterráneo.

Filogenia de las especies de *Rhodanthidium* del Mediterráneo Occidental

- El género *Rhodanthidium*, en su concepción actual, no es monofilético debido a la inclusión de sus especies en dos clados independientes.
- El subgénero *Rhodanthidium* constituye un grupo bien definido filogenéticamente (monofilético), por lo que debe considerarse el estatus de género solo para la especie tipo, *Rhodanthidium siculum*, y especies próximas, en este caso, *Rhodanthidium infuscatum*, *Rhodanthidium septemdentatum* y *Rhodanthidium sticticum*.

- En el género *Meganthidium* se incluirían las antiguas especies de *Rhodanthidium* que formaban parte de los subgéneros *Meganthidium* y *Asianthidium*.
- Las especies de *Rhodanthidium* que anidan en el interior de conchas vacías de Gasterópodos (*Rhodanthidium infuscatum*, *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum*) tienen un mismo antepasado más reciente común, por lo que se infiere que el uso de conchas es un comportamiento ancestral.
- Los resultados filogenéticos y filogeográficos sugieren una categoría subespecífica para *Rhodanthidium ordonezi*, subordinada a *Rhodanthidium sticticum* (*Rhodanthidium sticticum ordonezi*).
- A pesar de lo que se había propuesto hasta ahora, las poblaciones de *Rhodanthidium septemdentatum* de Europa Occidental y Central no parecen formar un complejo de especies. De igual manera, las poblaciones de Malta no deben ser identificadas como *Rhodanthidium rufocinctum*, sino como *Rhodanthidium septemdentatum*.

Filogeografía comparada de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum*

- *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* comparten una gran capacidad de dispersión y una elevada conectividad entre las poblaciones de zonas geográficas distantes.
- Como consecuencia, hay una considerable similitud genética y cierta abundancia de haplotipos y haplogrupos compartidos entre poblaciones de distintas áreas geográficas.
- Las poblaciones de las islas del Mediterráneo presentan una conectividad más limitada que las poblaciones continentales.
- Algunos aspectos biológicos de las tres especies (su polilectia y su gran capacidad de vuelo) han propiciado su dispersión, tanto por tierra como a través del mar.
- Además, el uso de conchas de Gasterópodos podría haber favorecido la dispersión y colonización a través del mar, en balsas vegetales.
- En las tres especies de *Rhodanthidium*, la colonización recurrente de áreas geográficas distantes ha sido impulsada, también, por la extensión del clima mediterráneo y por la

abundancia de conchas de Gasterópodos vacías, disponibles para nidificar y refugiarse, en amplias zonas calizas de la cuenca Mediterránea.

Uso de conchas de Gasterópodos y patrones de distribución de *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* en la Península Ibérica

- Las especies de *Rhodanthidium* de los caracoles, para anidar y refugiarse, dependen de la presencia de conchas vacías, principalmente de especies calcícolas y mediterráneas.
- Parece probable que el uso de conchas de caracol sea un comportamiento que apareció una única vez en la historia evolutiva del género *Rhodanthidium*.
- En la Península Ibérica, *Rhodanthidium septemdentatum*, *Rhodanthidium siculum* y *Rhodanthidium sticticum* se distribuyen por zonas calizas de clima mediterráneo, debido a la idoneidad climática de estas zonas y a la presencia y la abundancia de conchas de caracol vacías.
- La presencia simultánea de las especies de Gasterópodos y de las especies de *Rhodanthidium* de los caracoles, que dependen de ellas, se explica parcialmente por correlaciones ambientales. Estas correlaciones indican una respuesta común a las condiciones ambientales, en este caso de temperatura y precipitaciones.
- La importancia de las correlaciones residuales, que no se deben a los factores ambientales analizados, parece ser más determinante en la distribución de las especies de *Rhodanthidium* nidificantes en conchas de caracoles en la Península Ibérica. Estas correlaciones apuntan a una mayor relevancia del uso de los recursos bióticos (en este caso, del uso de conchas vacías de Gasterópodos) en la distribución de las especies estudiadas de *Rhodanthidium* de la Península Ibérica.

Papel ecológico de *Rhodanthidium sticticum* en las redes de polinización

- *Rhodanthidium sticticum* es la especie de abejas solitarias de mayor importancia ecológica en las comunidades vegetales ibéricas estudiadas, gracias a su rol como conector y generalista.
- Debido a su relevancia como polinizador para varias especies amenazadas o endémicas de *Antirrhinum* y de otras Antirrhineae, *Rhodanthidium sticticum* debería tenerse en cuenta para futuros planes de conservación de estas y otras especies amenazadas.
- *Rhodanthidium septemdentatum* es, también, una especie con importancia ecológica en otras redes de polinización mediterráneas. Sin embargo, parece que esto no ocurre cuando coexiste con *Rhodanthidium sticticum*.
- Varias especies del género *Anthidium* tienen papeles ecológicos relevantes en diversas redes de zonas templadas, lo que confiere a la tribu Anthidiini (especialmente a los géneros *Anthidium* y *Rhodanthidium*) de un especial interés para futuros estudios de redes de polinización.
- Los estudios sobre redes de polinización deben prestar más atención al papel de estas y otras especies de abejas solitarias, dada su importancia potencial en la estructura de las redes y para la supervivencia de numerosas especies vegetales de la comunidad.
- La protección de especies de particular interés para las redes de polinización (conectores y nexos, tanto de plantas como de polinizadores), como es el caso de *Rhodanthidium sticticum*, podría tener un valor considerable para la conservación de ecosistemas frágiles.

Historia natural de *Rhodanthidium sticticum*

- La fenología, la polilectia, la capacidad de vuelo, el comportamiento territorial y el comportamiento reproductor de *Rhodanthidium sticticum* son muy similares a los de otros Anthidiini, pero con algunas particularidades.
- *Rhodanthidium sticticum* es una especie univoltina de primavera, cuyo periodo de actividad depende de la climatología y la disponibilidad de plantas en flor en la comunidad de la que forma parte.

- Se encuentra activa durante los días soleados, cálidos y sin viento. En días lluviosos, fríos, nublados o ventosos se refugia en el interior de conchas vacías de Gasterópodos. También busca refugio en estas conchas al caer la tarde, para pasar la noche.
- Cuando se refugia en el interior de las conchas de caracol, es frecuente que comparta espacio con otros individuos de la misma especie o de otros Apoideos.
- *Rhodanthidium sticticum* es una especie poliléctica, pero tiene preferencias por especies de plantas con flores melitófilas o de corola tubular como, Labiadas, Papilionáceas y algunas Plantagináceas, particularmente especies de la tribu Antirrhineae. Esta especie de abeja se ve particularmente atraída por las flores de las especies del género *Antirrhinum*, que presentan una flor muy especializada en abejas.
- Los machos de *Rhodanthidium sticticum* son territoriales y defienden territorios que, generalmente, se componen de parches de flores de los grupos mencionados anteriormente, debido, por un lado, a que son flores atractivas para las hembras por la cantidad de polen y néctar que proporcionan y, por otro, porque la estructura de las flores dificulta que las hembras puedan escapar del macho cuando este intenta la cópula.
- La territorialidad de los machos parece ir dirigida a mantener el atractivo de sus territorios, a controlar a las hembras y a evitar que otros machos copulen con ellas, mostrando un comportamiento que, probablemente, está relacionado con la competencia espermática.
- Los machos de *Rhodanthidium sticticum* persiguen y atacan con fiereza no solo a otros machos conespecíficos, sino también a otros insectos voladores que puedan entrar en los territorios que defienden.

EN EL FUTURO

- Próximas investigaciones permitirán confirmar la clasificación de las especies orientales de *Rhodanthidium* (*Rhodanthidium aculeatum*, *Rhodanthidium acuminatum*, *Rhodanthidium buteum* y *Rhodanthidium exsectum*), su comportamiento nidificante y su posición en la filogenia del género y de la tribu Anthidiini.
- Otros estudios permitirán analizar las poblaciones de *Rhodanthidium septemdentatum* del Mediterráneo Oriental y de Oriente Medio, para obtener una visión global de la especie y de las conexiones entre las poblaciones orientales y occidentales.
- Nuevas investigaciones permitirán conocer si la disponibilidad de conchas vacías limita la distribución de las especies de abejas nidificantes en ellas a una mayor escala. También permitirán identificar otras especies de Gasterópodos utilizadas por las especies de abejas del género *Rhodanthidium* nidificantes en caracoles.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguib, S., Karima, B., Noudjoud, M. & Kamel, L., 2017. Nesting behaviour of *Osmia tingitana* Benoist (1969) (Hymenoptera: Megachilidae), endemic species of North Africa with first observation of its parasite *Chrysura barbata* Lucas (1849) (Hymenoptera: Chrysididae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, **5**: 1181-1186.
- Aguib, S., Louadi, K. & Schwarz, M., 2010. Les Anthidiini (Megachilidae, Megachilinae) d'Algérie avec trois espèces nouvelles pour ce pays: *Anthidium* (*Anthidium*) *florentinum* (Fabricius, 1775), *Anthidium* (*Proanthidium*) *amabile* Alfken, 1932 et *Pseudoanthidium* (*Exanthidium*) *enslini* (Alfken, 1928). *Entomofauna*, **31**: 121-152.
- Agulló, J.C., Pérez-Bañón, C., Crespo, M.B. & Juan, A., 2015. Puzzling out the reproductive biology of the endangered cat's head rockrose (*Helianthemum caput-felis*, Cistaceae). *Flora*, **217**: 75-81.
- Alcock, J., 1977. Patrolling and mating by males of *Callanthidium illustre* (Hymenoptera: Megachilidae). *The Southwestern Naturalist*, **22**: 554-557.
- Alcock, J., Eickwort, G.C. & Eickwort, K.R., 1977. The reproductive behavior of *Anthidium maculosum* (Hymenoptera: Megachilidae) and the evolutionary significance of multiple copulations by females. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **2**: 385-396.
- Alfken, J.D., 1935. Beitrag zur Kenntnis der Bienenfauna von Kleinasien. *Entomologische Rundschau*, **52**: 153-162.
- Alfken, J.D., 1938. Contributi alla conoscenza della fauna entomologica della Sardegna. Apidae. *Memorie della Societa Entomologica Italiana Genoa*, **16**: 97-114.
- Aliev, H.A., 1985. The first record of *Anthidium superbum* Radoszkowskj, 1876 (Hymenoptera, Megachilidae) from Transcaucasus. *Vestnik Zoologii*, **3**: 88.
- Alexander, B., 1991. *Nomada* phylogeny reconsidered (Hymenoptera: Anthophoridae). *Journal of Natural History*, **25**: 315-330.
- Almeida-Neto, M., Guimaraes, P., Guimaraes, P.R., Loyola, R.D. & Ulrich, W., 2008. A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement. *Oikos*, **117**: 1227-1239.
- Altaba, C.R., 1980. Introducció a l'estudi dels mol·luscs dels aiguamolls de l'Alt Empordà. *Butlletí de la Institució catalana d'Història Natural*, **45**: 31-36.
- Anderson, R.P., 2017. When and how should biotic interactions be considered in models of species niches and distributions? *Journal of Biogeography*, **44**: 8-17.
- Anderson, S.H., Kelly, D., Robertson, A.W. & Ladley, J.J., 2016. Pollination by birds, a functional evaluation. En: Sekercioglu, C.H. (Ed.), *Why birds matter: avian ecological function and ecosystem services*, University of Chicago Press, Chicago, Illinois. Pp. 73-106.
- Araújo, M.B. & Luoto, M., 2007. The importance of biotic interactions for modelling species distributions under climate change. *Global Ecology and Biogeography*, **16**: 743-753.
- Arroyo, M.T.K., Primack, R. & Armesto, J., 1982. Community studies in pollination ecology in the high temperate Andes of Central Chile. I. Pollination mechanisms and altitudinal variation. *American Journal of Botany*, **69**: 82-97.
- Ashman, T.L., Knight, T.M., Steets, J.A., Amaraskare, P., Burd, M., Campbell, D.R., Dudash, M.R., Johnston, M.O., Mazer, S.J., Mitchell, R.J., Morgan, M.T. & Wilson, W.G., 2004. Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, **85**: 2408-2421.

- Austin, M.P. & Van Niel, K.P., 2010. Improving species distribution models for climate change studies: variable selection and scale. *Journal of Biogeography*, **38**: 1-8.
- Avise, J.C., 2009. Phylogeography: Retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, **36**: 3–15.
- Baldock, D., 2014. A provisional list of the wasps and bees of Mallorca, Balearic Islands, Spain (Hymenoptera aculeata: Chrysidoidea, Scolioidae, Vespoidea, Apoidea). *Entomofauna*, **35**: 333-404.
- Baliteau, L., Iserbyt, S., Mahé, G., Rasmont, P., Le Goff, G., Pauly, A. & Scheuchl, E., 2013. Contribution à l'inventaire des Abeilles sauvages du département de l'Aveyron (France) (Hymenoptera, Apoidea). *Bulletin de la Société entomologique de France*, **118**: 343-362.
- Ballantyne, G., Baldock, K.C.R., Rendell, L. & Willmer, P.G., 2017. Pollinator importance networks illustrate the crucial value of bees in a highly speciose plant community. *Scientific reports*, **7**: 8389.
- Balzan, M.V., Rasmont, P., Kuhlmann, M., Dathe, H., Pauly, A., Patiny, S., Terzo, M. & Michez, D., 2016. The bees (Hymenoptera: Apoidea) of the Maltese Islands. *Zootaxa*, **4162**: 225-244.
- Baselga, A., 2008. Determinants of species richness, endemism and turnover in European longhorn beetles. *Ecography*, **31**: 263–271.
- Batra, S.W.T., 1978. Aggression, territoriality, mating and nest aggregation of some solitary bees (Hymenoptera: Halictidae, Megachilidae, Colletidae, Anthophoridae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, **51**: 547-559.
- Batra, S.W.T., 1984. Solitary bees. *Scientific American*, **250**: 120-127.
- Beaumont, L.J., Hughes, L. & Poulsen, M., 2005. Predicting species distributions: use of climatic parameters in BIOCLIM and its impact of predictions of species' current and future distributions. *Ecological Modelling*, **186**: 250-269.
- Beláková, A., 1996. Survey of threatened and rare species of bees in Slovakia. *Folia Faunistica Slovaca*, **1**: 53-58.
- Belshaw, R. & Quicke, D.L.J., 1997. A molecular phylogeny of the Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **7**: 281-293.
- Beltrán, R. & Traveset, A., 2018. Redes de interacción entre flores e himenópteros en dos comunidades costeras. Efectos de la pérdida de hábitat. *Ecosistemas*, **27**: 102-114.
- Benoist, R., 1928. Étude sur la fauna des Hyménoptères des Alpes Françaises. *Annales de la Société Entomologique de France*, **97**: 389-417.
- Biddick, M. & Burns, C., 2018. Phenotypic trait matching predicts the topology of an insular plant-bird pollination network. *Integrative Zoology*, **13**: 339-347.
- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P.M., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., Schaffers, A.P., Potts, S.G., Kleulers, R., Thomas, C.D., Settele, J. & Kunin, W.E., 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, **313**: 351-354.
- Bischoff, I., Eckelt, E. & Kuhlmann, M., 2005. On the biology of the ivy-bee *Colletes hederæ* Schmidt & Westrich, 1993 (Hymenoptera, Apidae). *Bonner zoologische Beiträge*, **53**: 27-36.
- Blanco-Pastor, J.L., Ornos, C., Romero, D., Liberal, I., Gómez, J.M. & Vargas, P., 2015. Bees explain floral variation in a recent radiation of *Linaria*. *Journal of Evolutionary Biology*, **28**: 851-863.

- Blanco-Pastor, J.L. & Vargas, P., 2013. Autecological traits determined two evolutionary strategies in Mediterranean plants during the Quaternary: low differentiation and range expansion versus geographical speciation in *Linaria*. *Molecular Ecology*, **22**: 5651–5668.
- Blondel, J., Aronson, J., Bodiou, J.Y. & Bouf, G., 2010. *The Mediterranean Region: Biological diversity in space and time*. 2nd Edition. Oxford University Press, Oxford. 392 pp.
- Blundo, C., Malizia, L.R., Blake, J.G. & Brown, A.D., 2012. Tree species distribution in Andean forests: influence of regional and local factors. *Journal of Tropical Ecology*, **28**: 83-95.
- Bogusch, P., Hlaváčková, L., Šilhán, K. & Horsák, M., 2020. Long-term changes of steppe-associated wild bees differ between shell-nesting and ground-nesting species. *Journal of Insect Conservation*, **24**: 513-523.
- Bogusch, P., Kratochvíl, L. & Straka, J., 2006. Generalist cuckoo bees (Hymenoptera: Apoidea: *Sphecodes*) are species-specialist at the individual level. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **60**: 422-429.
- Bosch, J., Vicens, N. & Blas, M., 1993. Análisis de los nidos de algunos Megachilidae nidificantes en cavidades preestablecidas (Hymenoptera, Apoidea). *Orsis*, **8**: 53-63.
- Bossert, S., Murray, E.A., Almeida, E.A.B., Brady, S.G., Blaimer, B.B. & Danforth, B.N., 2020. Combining transcriptomes and ultraconserved elements to illuminate the phylogeny of Apidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **130**: 121-131.
- Brown, M.J.F. & Paxton, R.J., 2009. The conservation of bees: a global perspective. *Apidologie*, **40**: 410-416.
- Bucklin, D.N., Basille, M., Benschoter, A.M., Brand, L.A., Mazzotti, F.J., Romanach, S.S., Speroterra, C. & Watling, J.I., 2015. Comparing species distribution models constructed with different subsets of environmental predictors. *Diversity and Distributions*, **21**: 23-35.
- Calefariu, C.M., 2016. Tribe Anthidiini (Hymenoptera: Apoidea: Megachilidae) from Romania. *Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"*, **59**: 115-128.
- Cameron, S.A., 2004. Phylogeny and biology of neotropical orchid bees (Euglossini). *Annual Review of Entomology*, **49**: 377-404.
- Cane, J.H., Griswold, T. & Parker, F.D., 2007. Substrates and materials used for nesting by North American *Osmia* bees (Hymenoptera: Apiformes: Megachilidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **100**: 350-358.
- Cane, J.H. & Sipes, S., 2006. Characterizing floral specialization by bees: analytical methods and a revised lexicon for oligolecty. En: Waser & Ollerton (Eds.), *Plant-pollinator interactions: from specialization to generalization*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA. Pp. 99-122.
- Cardinal, S. & Danforth, B.N., 2011. The antiquity and evolutionary history of social behavior in bees. *PLoS ONE*, **6**: e21086.
- Cardinal, S., Straka J. & Danforth, B.N., 2010. Comprehensive phylogeny of apid bees reveals evolutionary origins and antiquity of cleptoparasitism. *PNAS*, **107**: 16207-16211.
- Carrió, E. & Güemes, J., 2013. The role of a mixed mating system in the reproduction of a Mediterranean subshrub (*Fumana hispídula*, Cistaceae). *Journal of Plant Research*, **126**: 33-40.
- Carthew, S.M. & Goldingay, R.L., 1997. Non-flying mammals as pollinators. *Trends in Ecology & Evolution*, **12**: 104-108.
- Černá, K., Munclinger, P., Vereecken, N.J. & Straka, J., 2017. Mediterranean lineage endemism, cold-adapted palaeodemographic dynamis and recent changes in population size in two solitary bees of the genus *Anthophora*. *Conservation Genetics*, **18**: 521-538.

- Černá, K., Straka, J. & Munclinger, P., 2013. Population structure of pioneer specialist solitary bee *Andrena vaga* (Hymenoptera: Andrenidae) in central Europe: the effect of habitat fragmentation or evolutionary history? *Conservation Genetics*, **14**: 875-883.
- Chapman, R.E., Wang, J. & Bourke, A.F.G., 2003. Genetic analysis of spatial foraging patterns and resource sharing in bumble bee pollinators. *Molecular Ecology*, **12**: 2801-2808.
- Chib, S. & Greenberg, E., 1998. Analysis of multivariate probit models. *Biometrika*, **85**: 347-361.
- Coll, J.R., Aguilar, E. & Ashcroft, L., 2017. Drought variability and change across the Iberian Peninsula. *Theoretical and Applied Climatology*, **130**: 901-916.
- Comba, M. & Comba, L., 2010. Gli apoidei apiformi del Parco Nazionale del Circeo (Hymenoptera, Apoidea). *Bolletino dell'Associazione Romana di Entomologia*, **65**: 385-434.
- Conrad, T., Paxton, R.J., Assum, G. & Ayasse, M., 2018. Divergence in male sexual odor signal and genetics across populations of the red mason bee, *Osmia bicornis*, in Europe. *PLoS ONE*, **13**: e0193153.
- Cox, K., McKeown, N., Antonini, G., Harvey, D., Solano, E., Van Breusegem, A. & Thomaes, A., 2019. Phylogeographic structure and ecological niche modelling reveal signals of isolation and postglacial colonisation in the European stag beetle. *PLoS ONE*, **14**: e0215860.
- Cox, N., Chanson, J. & Stuart, S., 2006. *The Status and Distribution of Reptiles and Amphibians of the Mediterranean Basin*. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 42 pp.
- Crane, P.R., Friis, E.M. & Pedersen, K.R., 1995. The origin and early diversification of angiosperms. *Nature*, **374**: 27-33.
- Cuttelod, A., García, N., Malak D.A., Temple, H. & Katariya, V., 2008. The Mediterranean: a biodiversity hotspot under threat. En: Vié, J.C., Hilton-Taylor, C. & Stuart, S.N. (Eds.). *The 2008 Review of The IUCN Red List of Threatened Species*. IUCN Gland, Switzerland. 13 pp.
- Danforth, B.N., Cardinal, S., Praz, C., Almeida, E.A.B. & Michez, D., 2013. The impact of molecular data on our understanding of bee phylogeny and evolution. *Annual Review of Entomology*, **58**: 57-78.
- Danforth, B.N., Fang, J. & Sipes, S., 2006. Analysis of family-level relationships in bees (Hymenoptera: Apiformes) using 28S and two previously unexplored nuclear genes: CAD and RNA polymerase II. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **39**: 358-372.
- Danforth, B.N., Sipes, S., Fang, J. & Brady, S.G., 2006. The history of early bee diversification based on five genes plus morphology. *PNAS*, **103**: 15118-15123.
- Davis, E.S., Murray, T.E., Fitzpatrick, U., Brown, M.J.F. & Paxton, R.J., 2010. Landscape effects on extremely fragmented populations of a rare solitary bee, *Colletes floralis*. *Molecular Ecology*, **19**: 4922-4935.
- De Castro, M., Martín-Vide, J. & Alonso, S., 2005. El clima en España: pasado, presente y escenarios de clima para el siglo XXI. [Climate in Spain: Past, present and scenarios of climate for the 21st Century] En: MMA (Ed.), *Evaluación preliminar de los impactos en España por efecto del cambio climático*. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid, Spain. Pp. 1-65.
- De Sosa, I., Marchán, D.F., Novo, M., Almodóvar, A. & Díaz Cosín, D.J., 2017. Bless this phylogeographic mess - comparative study of *Eiseniella tetraedra* (Annelida, Oligochaeta) between an Atlantic area and a continental Mediterranean area in Spain. *European Journal of Soil Biology*, **78**: 50-56.

- Dellicour, S., Mardulyn, P., Hardy, O.J., Hardy, C., Roberts, S.P.M. & Vereecken, N.J., 2014. Inferring the mode of colonization of the rapid range expansion of a solitary bee from multilocus DNA sequence variation. *Journal of Evolutionary Biology*, **27**: 116-132.
- Dellicour, S., Michez, D. & Mardulyn, P., 2015a. Comparative phylogeography of five bumblebees: impact of range fragmentation, range size and diet specialization. *Biological Journal of the Linnean Society*, **116**: 926-939.
- Dellicour, S., Michez, D., Rasplus, J.Y. & Mardulyn, P., 2015b. Impact of past climatic changes and resource availability on the population demography of three food-specialist bees. *Molecular Ecology*, **24**: 1074-1090.
- Delmas, E., Besson, M., Brice, M., Burkle, L.A., Dalla Riva, G.V., Fortin, M., Gravel, D., Guimarães, P.R., Hembry, D., Newman, E.A., Olesen, J.M., Pires, M.M., Yeakel, J.D. & Poisot, T., 2019. Analyzing ecological networks of species interactions. *Biological Reviews*, **94**: 16-36.
- Dennis, R.L.H., Shreeve, T.G. & Williams, W.R., 1995. Taxonomic differentiation in species richness gradients among European butterflies (Papilionoidea, Hesperioidea): contribution of macroevolutionary dynamics. *Ecography*, **18**: 27-40.
- Dinca, V., Dapporto, L. & Vila, R., 2011. A combined genetic-morphometric analysis unravels the complex biogeographical history of *Polyommatus icarus* and *Polyommatus celina* Common Blue butterflies. *Molecular Ecology*, **20**: 3921-3935.
- Dorchin, A., López-Urbe, M.M., Praz, C.J., Griswold, T. & Danforth, B.N., 2018. Phylogeny, new generic-level classification, and historical biogeography of the *Eucera* complex (Hymenoptera: Apidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **119**: 81-92.
- Dörge, N., Walther, C., Beinlich, B. & Plachter, H., 1999. The significance of passive transport for dispersal in terrestrial snails (Gastropoda, Pulmonata). *Zeitschrift für Ökologie und Naturschutz*, **8**: 1-10.
- Dormann, C.F., Gruber, B. & Fruend, J., 2008. Introducing the bipartite Package: Analysing Ecological Networks. *R news*, **8**: 8-11.
- Dormann, C.F., Schymanski, S.J., Cabral, J., Chuine, I., Graham, C., Hartig, F., Kearney, M., Morin, X., Römermann, C., Schröder, B. & Singer, A., 2012. Correlation and process in species distribution models: bridging a dichotomy. *Journal of Biogeography*, **39**: 2119-2131.
- Drummond, A., Ashton, B., Buxton, S., Cheung, M., Cooper, A., Heled, J., Kearse, M., Moir, R., Stones-Havas, S., Sturrock, S., Thierer, T. & Wilson, A., 2010. Geneious v5.1. Disponible en: <http://www.geneious.com>.
- Drummond, A.J. & Rambaut, A., 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, **7**: 214.
- Dupont, Y.L., Hansen, D.M., & Olesen, J.M., 2003. Structure of a plant-flower-visitor network in the high-altitude sub-alpine desert of Tenerife, Canary Islands. *Ecography*, **26**: 301-310.
- Dupont, Y.L. & Olesen, J.M., 2012. Stability of modular structure in temporal cumulative plant flower-visitor networks. *Ecological Complexity*, **11**: 84-90.
- Duque-Lazo, J., van Gils, H., Groen, T.A. & Navarro-Cerrillo, R.M., 2016. Transferability of species distribution models: the case of *Phytophthora cinnamomi* in Southwest Spain and Southwest Australia. *Ecological Modelling*, **320**: 62-70.
- Dusmet, J.M., 1906. Himenópteros de la Sierra de Albarracín, Calamocha y Calatayud. *Boletín de la Sociedad Aragonesa de Ciencias Naturales*, **5**: 100-111.

- Dusmet, J.M., 1908. Los Ápidos de España. III. Gén. *Anthidium*. *Memorias de la Real Sociedad Española de Historia Natural*, **5**: 153-214.
- Dusmet, J.M., 1915a. Ápidos de Marruecos de los gen. *Anthidium*, *Nomada*, *Melecta*, *Crocisa*, *Coelioxys* y *Pliarus*. *Memorias de la Real Sociedad Española de Historia Natural*, **8**: 293-336.
- Dusmet, J.M., 1915b. Himenópteros de Aragón. *Boletín de la Sociedad Aragonesa de Ciencias Naturales*, **14**: 81-99.
- Dyer, A.G. & Chittka, L., 2004. Fine colour discrimination requires differential conditioning in bumblebees. *Naturwissenschaften*, **91**: 224-227.
- Eardley, C. & Griswold, T., 2018. Taxonomic revision of *Cyphanthidium* Pasteels (Hymenoptera: Apoidea: Megachilidae: Megachilinae: Anthidiini) an endemic Afrotropical bee genus. *Zootaxa*, **4450**: 26-40.
- Eilers, E.J., Kremen, C., Greenleaf, S.S., Garber, A.K. & Klein, A.M., 2011. Contribution of pollinator-mediated crops to nutrients in the human food supply. *PLoS ONE*, **6**: e21363.
- Elith, J. & Graham, C.H., 2009. Do they? How do they? WHY do they differ? On finding reasons for differing performances of species distribution models. *Ecography*, **32**: 66-77.
- Elith, J., Graham, C.H., Anderson, R.P., Dudík, M., Ferrier, S., Guisan, A., Hijmans, R.J., Huettmann, F., Leathwick, J.R., Lehmann, A., Li, J., Lohmann, L.G., Loiselle, B.A., Manion, G., Moritz, C., Nakamura, M., Nakazawa, Y., Overton, J.M.M., Peterson, A.T., Phillips, S.J., Richardson, K., Scachetti-Pereira, R., Schapire, R.E., Soberón, J., Williams, S., Wisz, M.S. & Zimmermann, N.E., 2006. Novel methods improve prediction of species' distributions from occurrence data. *Ecography*, **29**: 129-151.
- Elith, J. & Leathwick, J.R., 2009. Species Distribution Models: ecological explanation and prediction across space and time. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **40**: 677-697.
- Elith, J., Phillips, S.J., Hastie, T., Dudík, M., En Chee, Y. & Yates, C., 2011. A statistical explanation of Maxent for ecologists. *Diversity and Distributions*, **17**: 43-57.
- Emlen, S.T. & Oring, L.W., 1977. Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science*, **197**: 215-223.
- Erbar, C. & Leins, P., 2017. Sex and breeding behaviour of the Sicilian snail-shell bee (*Rhodanthidium siculum* Spinola, 1838; Apoidea-Megachilidae): preliminary results. *Arthropod-Plant Interactions*, **11**: 317-328.
- Erichson, W.F., 1835. Beschreibung von 19 neuen Hymenopteren aus Andalusien. *Reise durch Tyrol, Oberitalien und Piemont nach den südlichen Spanien*. **2**: 101-109.
- Escudero, A., Torres, M.E., Pérez, C. & Iriondo J.M., 2003. Spatial scales in the genetic diversity of allogamous *Antirrhinum microphyllum* Rothm. (*Scrophulariaceae*). *Bocconeia*, **16**: 165-172.
- Esmaili, M. & Rastegar, R., 1974. Identified species of Aculeate Hymenoptera of Iran. *Journal of the Entomological Society of Iran*, **2**: 43-46.
- Exeler, N., Kratochwil, A. & Hochkirch, A., 2008. Strong genetic exchange among populations of a specialist bee, *Andrena vaga* (Hymenoptera: Andrenidae). *Conservation Genetics*, **9**: 1233-1241.
- Exeler, N., Kratochwil, A. & Hochkirch, A., 2010. Does recent habitat fragmentation affect the population genetics of a heathland specialist, *Andrena fuscipes* (Hymenoptera: Andrenidae)? *Conservation Genetics*, **11**: 1679-1687.
- Fabre, J.H., 1891. *Souvenirs entomologiques, quatrième série*. Paris (Delagrave).

- Fahringer, J., 1922. Hymenopterologische Ergebnisse einer Wissenschaftlichen Studienreise nach der Türkei und Kleinasien (mit Ausschluß des Amanusgebirges). *Archiv für Naturgeschichte*, **9**: 149-221.
- Felsenstein, J., 1989. PHYLIP - Phylogeny Inference Package. *Cladistics*, **5**: 164–166.
- Felsenstein, J., 2005. *PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6*. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Fernández-Mazuecos, M., Blanco-Pastor, J.L., Gómez, J.M., Vargas, P., 2013. Corolla morphology influences diversification rates in bifid toadflaxes (*Linaria* sect. *Versicolores*). *Annals of Botany*, **112**: 1705-1722.
- Fernández-Mazuecos, M. & Vargas, P., 2013. Congruence between distribution modelling and phylogeographical analyses reveals Quaternary survival of a toadflax species (*Linaria elegans*) in oceanic climate areas of a mountain ring range. *New Phytologist*, **198**: 1274-1289.
- Ferrari, R.R., Onuferko, T.M., Monckton, S.K. & Packer, L., 2020. The evolutionary history of the cellophane bee genus *Colletes* Latreille (Hymenoptera: Colletidae): Molecular phylogeny, biogeography and implications for a global infrageneric classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **146**: 106750.
- Ferrari, R.R., Nemésio, A. & Silveira, F.A., 2017. Phylogeny of the orchid-bee genus *Euglossa* Latreille (Hymenoptera: Apidae), with emphasis on the subgenera *E. (Glossura)* Cockerell and *E. (Glossuropoda)* Moure. *Zoologischer Anzeiger*, **267**: 82-100.
- Ferton, C., 1908. Notes détachées sur l'instinct des Hyménoptères mellifères ravisseurs avec la description de quelques espèces (4e série). *Annales de la Société entomologique de France*, **77**: 535-585.
- Ferton, C., 1911. Notes détachées sur l'instinct des Hyménoptères mellifères ravisseurs avec la description de quelques espèces (7e série). *Annales de la Société entomologique de France*, **80**: 351-412.
- Fick, S.E. & Hijmans, R.J., 2017. Worldclim 2: New 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, **37**: 4302-4315.
- Fielding, A.H. & Bell, J.F., 1997. A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. *Environmental Conservation*, **24**: 38-49.
- Fortuna, M.A., Stouffer, D.B., Olesen, J.M., Jordano, P., Mouillot, D., Krasnov, B.R., Poulin, R. & Bascompte, J., 2010. Nestedness versus modularity in ecological networks: two sides of the same coin? *Journal of Animal Ecology*, **79**: 811-817.
- Fortunato, L., Buian, F.M., Chiesa, F. & Zandigiacomo, P., 2013. Note biologiche su *Anthidium florentinum* nell'Italia nord-orientale (Hymenoptera, Megachilidae). *Bollettino Società Naturalisti "Silvia Zenari", Pordenone*, **37**: 137-145.
- Franck, P., Garnery, L., Solignac, M. & Cornuet, J.M., 1998. The origin of west European subspecies of honeybees (*Apis mellifera*): new insights from microsatellite and mitochondrial data. *Evolution*, **52**: 1119-1134.
- Frantini-Silva, R.E.S., Giangarelli, D.C., Penha, R.E.S., Suzuki, K.M., Dec, E., Gaglianone, M.C., Alves-dos-Santos, I. & Sofia, S.H., 2017. Phylogeography and historical demography of the orchid bee *Euglossa iopoecila*: signs of vicariant events associated to Quaternary climatic changes. *Conservation Genetics*, **18**: 539-552.
- Frey-Gessner, E., 1909. Hyménoptères du Valais. (Suite). *Bulletin de la Murithienne*, **36**: 179-225.

- Friese, H., 1898. *Die bienen Europa's (Apidae europaeae) Theil IV. Solitäre Apiden. Genus Eriades. Genus Trachusa. Genus Anthidium*. C. Lampe. Innsbruck. 303 pp.
- Friese, H., 1931. Ueber einige hochentwickelte bienen (Hym.). *Konowia*, **10**: 34-39.
- Gallai, N., Salles, J.M., Settele, J. & Vaissière, B. E., 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, **68**: 810– 21.
- García-González, F. & Ornos, C., 1999. Comportamiento territorial asociado a la poliginia de defensa del recurso en *Anthidium florentinum* (Fabricius, 1775) (Hymenoptera, Megachilidae). *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **23**: 41-51.
- García-Olivares, V., López, H., Patiño, J., Alvarez, N., Machado, A., Carracedo, J.C., Soler, V. & Emerson, B.C., 2017. Evidence for mega-landslides as drivers of island colonization. *Journal of Biogeography*, **44**: 1053-1064.
- Garnery, L., Solignac, M., Celebrano, G. & Cornuet, J.M., 1993. A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. *Experientia*, **49**: 1016-1021.
- Gasull, L., 1975. Fauna malacologica terrestre del Sudeste Iberico. *Bolletí de la Societat d'Història Natural de les Balears*, **20**: 5-155.
- GBIF.org, (07 February 2018). *Eobania vermiculata* GBIF Occurrence Download. Disponible en: <https://doi.org/10.15468/dl.qprtsh>.
- GBIF.org, (07 February 2018). *Otala lactea* GBIF Occurrence Download. Disponible en: <https://doi.org/10.15468/dl.ag90ir>.
- GBIF.org, (07 February 2018). *Otala punctata* GBIF Occurrence Download. Disponible en: <https://doi.org/10.15468/dl.tcrbwm>.
- GBIF.org, (07 February 2018). *Sphincterochila candidissima* GBIF Occurrence Download. Disponible en: <https://doi.org/10.15468/dl.chpft4>.
- GBIF.org, (07 February 2018). *Theba pisana* GBIF Occurrence Download. Disponible en: <https://doi.org/10.15468/dl.pxdney>.
- GBIF.org, 2020. *GBIF Home Page*. Disponible en: <https://www.gbif.org>
- Gess, F.W., Gess, S.K., 1999. The use by wasps, bees and spiders of shells of *Trigonephrus* Pilsb. (Mollusca: Gasteropoda: Dorcasiidae) in desertic winter-rainfall areas in southern Africa. *Journal of Arid Environments*, **43**: 143–153.
- Gess, S.K. & Gess, F.W., 2008. Patterns of usage of snail shells for nesting by wasps (Vespidae: Masarinae and Eumeninae) and bees (Megachilidae: Megachilinae) in Southern Africa. *Journal of Hymenoptera Research*, **17**: 86-109.
- Gess, S.K. & Gess, F.W., 2014. Wasps and bees in southern Africa. *SANBI Biodiversity Series 24*. South African National Biodiversity Institute, Pretoria. 320 pp.
- Giannini, T.C., Saraiva, A.M. & Alves-dos-Santos, I., 2010. Ecological niche modeling and geographical distribution of pollinator and plants: A case study of *Peponapis fervens* (Smith, 1879) (Eucerini: Apidae) and *Cucurbita* species (Cucurbitaceae). *Ecological Informatics*, **5**: 59–66.
- Giannini, T.C., Acosta, A.L., Da Silva, C.I., Alves Macedo De Oliveira, P.E., Imperatriz - Fonseca, V.L. & Saraiva, A.M., 2013a. Identifying the areas to preserve passion fruit pollination service in Brazilian Tropical Savannas under climate change. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **171**: 39-46.
- Giannini, T.C., Chapman, D.S., Saraiva, A.M., Alves-dos-Santos, I. & Biesmeijer, J.C., 2013b. Improving species distribution models using biotic interactions: a case study on parasites, pollinators and plants. *Ecography*, **36**: 649-656.

- Giannini, T.C., Pinto, C.E., Acosta, A.L., Taniguchi, M., Saraiva, A.M. & Alves-dos-Santos, I., 2013c. Interactions at large spatial scale: The case of *Centris* bees and floral oil producing plants in South America. *Ecological Modelling*, **258**: 74–81.
- Giraud, J., 1863. Hyménoptères recueillis aux environs de Suse, en Piémont, et dans le département des Hautes-Alpes, en France; et description de quinze espèces nouvelles. *Verhandlungen der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien*, **13**: 11-46.
- Giurfa, M., Núñez, J., Chittka, L. & Menzel, R., 1995. Colour preferences of flower-naïve honeybees. *Journal of Comparative Physiology A*, **177**: 247-259.
- Glor, R.E., Losos, J.B. & Larson, A., 2005. Out of Cuba: overwater dispersal and speciation among lizards in the *Anolis carolinensis* subgroup. *Molecular Ecology*, **14**: 2419–2432.
- Gogala, A., 1991. Contribution to the knowledge of the bee fauna of Slovenia (Hymenoptera: Apidae). *Scopolia*, **25**: 1-33.
- Gogala, A., 1999. Bee fauna of Slovenia: checklist of species (Hymenoptera: Apoidea). *Scopolia*, **42**: 1-79.
- Gogala, A., 2014. Čebele znoske v Sloveniji (Hymenoptera: Apoidea: Megachilidae). Megachilid bees of Slovenia (Hymenoptera: Apoidea: Megachilidae). *Scopolia*, **80**: 1-195.
- Gómez-Aparicio, L., García-Valdés, R., Ruíz-Benito, P. & Zavala, M.A., 2011. Disentangling the relative importance of climate, size and competition on tree growth in Iberian forests: implications for forest management under global change. *Global Change Biology*, **17**: 2400-2414.
- Gómez-Moracho, T., Bartolomé, C., Bello, X., Martín-Hernández, R., Higes, M. & Maside, X., 2015. Recent worldwide expansion of *Nosema ceranae* (Microsporidia) in *Apis mellifera* populations inferred from multilocus patterns of genetic variation. *Infection, Genetics and Evolution*, **31**: 87-94.
- González, A.M., Dalsgaard, B. & Olesen, J.M., 2009. Centrality measures and the importance of generalist species in pollination networks. *Ecological Complexity*, **7**: 36-43.
- González, J.A., Torres, F. & Gayubo, S.F., 1999. Estudio de biodiversidad de abejas (Hymenoptera: Apoidea) en un biotopo arenoso de la Submeseta Norte (España). *Zoologica baetica*, **10**: 87-111.
- González, V., 2004. *Estimación de la riqueza y abundancia de polinizadores potenciales basada en parámetros morfológicos florales de plantas ruderales*. – PhD Thesis, Universidad de Castilla-La Mancha, Toledo, España.
- González, V.H. & Griswold, T.L., 2013. Wool carder bees of the genus *Anthidium* in the Western Hemisphere (Hymenoptera: Megachilidae): diversity, host plant associations, phylogeny, and biogeography. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **168**: 221-425.
- González, V.H., Griswold, T., Praz, C.J. & Danforth, B.N., 2012. Phylogeny of the bee family Megachilidae (Hymenoptera: Apoidea) based on adult morphology. *Systematic Entomology*, **37**: 261-286.
- González, V.H., Olsen, A., Mallula, M., Tosunoglu, A., Çakmak, I., Hranitz, J. & Barthell, J., 2017. Bee visitors of *Centaurea solstitialis* L. (Asteraceae) in an urban environment in northwestern Turkey. *Arthropod-Plant Interactions*, **11**: 403–409.
- González-Varo, J.P., Arroyo, J. M. & Jordano, P., 2018. The timing of frugivore-mediated seed dispersal effectiveness. *Molecular Ecology*, **28**: 219-231.
- González-Varo, J.P., Ortiz-Sánchez, F.J. & Vilà, M., 2016. Total bee dependence on one flower species despite available congeners of similar floral shape. *PLoS ONE*, **11**: e0163122.
- Gordo, O. & Sanz, J.J., 2005. Phenology and climate change: a long term study in a Mediterranean locality. *Oecologia*, **146**: 484-495.

- Grace, A., 2010. *Introductory biogeography to bees of the Eastern Mediterranean and Near East*. Bexhill Museum, Sussex, UK. 284 pp.
- Graeffe, E., 1902. Die Apiden-Fauna des österreichischen Küstenlandes. *Verhandlungen der Kaiserlich-Königlichen Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien*, **52**: 113-135.
- Graeffe, E., 1906. Beiträge zur Insektenfauna von Tunis. *Verhandlungen der Zoologisch – Botanischen Gesellschaft in Wien*, **56**: 446-471.
- Greenleaf, S.S. & Kremen, C., 2006. Wild bees enhance honey bees' pollination of hybrid sunflower. *PNAS*, **103**: 13890-13895.
- Gresty, C.E.A., Clare, E., Devey, D.S., Cowan, R.S., Csiba, L., Malakasi, P., Lewis, O.T. & Willis, K.J., 2018. Flower preferences and pollen transport networks for cavity-nesting solitary bees: Implications for the design of agri-environment schemes. *Ecology and Evolution*, **8**: 7574-7587.
- Greuter, W., 2001. Diversity of Mediterranean island floras. *Bocconeia*, **13**: 55-64.
- Gribodo, G., 1894. Note imenotterologiche di Giovanni Gribodo. Nota II. Nuovi generi e nuove specie di Imenotteri Antofili ed osservazioni sopra alcune specie già conosciute. *Bollettino della Società entomologica italiana*, **26**: 76-136.
- Grimaldi, D., 1999. The co-radiations of pollinating insects and angiosperms in the Cretaceous. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **86**: 373-406.
- Groom, S.V.C., Stevens, M.I. & Schwarz, M.P., 2013. Diversification of Fijian halictine bees: Insights into a recent island radiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **68**: 682-694.
- Güemes, J. & Mota, J.F., 2017. *Gadoria* (Antirrhineae, Plantaginaceae): A new genus, endemic from Sierra de Gádor, Almería, Spain. *Phytotaxa*, **298**: 201-221.
- Guimaraes, P.R. & Guimaraes, P., 2006 Improving the analyses of nestedness for large sets of matrices. *Environmental Modelling & Software*, **21**: 1512-1513.
- Guimerá, R. & Amaral, L.A.N., 2005a. Functional cartography of complex metabolic networks. *Nature*, **433**: 895-900.
- Guimerá, R. & Amaral, L.A.N., 2005b. Cartography of complex networks: modules and universal roles. *Journal of Statistical Mechanics*, **P02001**: 1-13.
- Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W. & Gascuel, O., 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, **59**: 307-21.
- Guindon, S. & Gascuel, O., 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology*, **52**: 696-704.
- Guisan, A. & Thuiller, W., 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters*, **8**: 993-1009.
- Güler, Y., 2011. The wild bee fauna of Afyonkarahisar Province: Andrenidae, Anthophoridae and Megachilidae (Hymenoptera: Apoidea). *Linzer Biologische Beiträge*, **43**: 731-746.
- Güler, Y., & Çagatay, N., 2006. Faunistic study on Megachilini, Osmiini and Anthidiini tribes (Hymenoptera: Megachilidae) in Central Anatolia. *Journal of the Entomological Research Society*, **8**: 15-34.
- Güler, Y., Dikmen, F., Töre, D. & Aytekin, A.M., 2014. Contributions on the current knowledge of the diversity of the Megachilidae (Apoidea: Hymenoptera) fauna in the Mediterranean Region of Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, **38**: 255-278.
- Guzmán, B., Gómez, J.M. & Vargas, P., 2015. Bees and evolution of occluded corollas in snapdragons and relatives (Antirrhineae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **17**: 467-475.

- Guzmán, B., Gómez, J.M. & Vargas, P., 2017. Is floral morphology a good predictor of floral visitors to Antirrhineae (snapdragons and relatives)? *Plant Biology*, **19**: 515-524.
- Hardy, O.J., 2008. Testing the spatial phylogenetic structure of local communities: statistical performances of different null models and test statistics on a locally neutral community. *Journal of Ecology*, **96**: 914-926.
- Hawkins, B.A. & Porter, E.E., 2003. Water-energy balance and the geographic pattern of species richness of western Palearctic butterflies. *Ecological Entomology*, **28**: 678-686.
- Hedtke, S.M., Patiny, S. & Danforth, B.N., 2013. The bee tree of life: a supermatrix approach to apoid phylogeny and biogeography. *BMC Evolutionary Biology*, **13**: 138.
- Hellrigl, K., 2003. Faunistik der ameisen und wildbienen Südtirols (Hymenoptera: Formicidae et Apoidea). *Gredleriana*, **3**: 143-208.
- Hellrigl, K., 2006. Synopsis der wildbienen Südtirols (Hymenoptera: Apidae). *Forest Observer*, **2/3**: 421-472.
- Heneberg, P., Bogusch, P. & Hlaváčková, L., 2020. Experimental confirmation of empty snail shells as limiting resources for specialized bees and wasps. *Ecological Engineering*, **142**: 105640.
- Hernández, P.A., Graham, C.H., Master, L.L. & Albert, D.L., 2006. The effect of sample size and species characteristics on performance of different species distribution modeling methods. *Ecography*, **29**: 773-785.
- Herrera, C.M., 2019. Complex long-term dynamics of pollinator abundance in undisturbed Mediterranean montane habitats over two decades. *Ecological Monographs*, **89**: e01338.
- Herrera, J., 1988. Pollination relationships in Southern Spanish mediterranean shrublands. *Journal of Ecology*, **76**: 274-287.
- Herrera, J.M., Ploquin, E.F., Rasmont, P. & Obeso, J.R., 2018. Climatic niche breadth determines the response of bumblebees (*Bombus* spp.) to climate warming in mountain areas of the Northern Iberian Peninsula. *Journal of Insect Conservation*, **22**: 771-779.
- Herrera, J.M., Ploquin, E.F., Rodríguez-Pérez, J. & Obeso, J.R., 2014. Determining habitat suitability for bumblebees in a mountain system: a baseline approach for testing the impact of climate change on the occurrence and abundance of species. *Journal of Biogeography*, **41**, 700-712.
- Hewitt, G.M., 2011. Mediterranean Peninsulas: The Evolution of Hotspots. En: Zachos, F. & Habel, J. (Eds.) *Biodiversity Hotspots*. Springer, Berlin: 123-147.
- Higes, M., Martín-Hernández, R., Garrido-Bailón, E., González-Porto, A.V., García-Palencia, P., Meana, A., del Nozal, M.J., Mayo, R. & Bernal, J.L., 2009. Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries. *Environmental Microbiology Reports*, **1**: 110-113.
- Hinojosa-Díaz, I.A., Feria-Arroyo, T.P. & Engel, M.S., 2009. Potential distribution of orchid bees outside their native range: The cases of *Eulaema polychroma* (Mocsáry) and *Euglossa viridissima* Friese in the USA (Hymenoptera: Apidae). *Diversity and Distributions*, **15**: 421-428.
- Hirzel, A.H., Hausser, J., Chessel, D. & Perrin, N., 2002. Ecological-niche factor analysis: how to compute habitat-suitability maps without absence data? *Ecology*, **83**: 2027- 2036.
- Hofmann, M.M., Zohner, C.M. & Renner, S.S., 2019. Narrow habitat breadth and late-summer emergence increases extinction vulnerability in Central European bees. *Proceedings of the Royal Society B*, **286**: 20190316.

- Hofman, S., Spolsky, C., Uzzell, T., Cogalniceanu, D., Babik, W. & Szymura, J.M., 2007. Phylogeography of the fire-bellied toads *Bombina*: independent Pleistocene histories inferred from mitochondrial genomes. *Molecular Ecology*, **16**: 2301 – 2316.
- Holsinger, K.E. & Weir, B.S., 2009. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nature Reviews Genetics*, **10**: 639-650.
- Hung, K.L.J., Kingston, J.M., Albrecht, M., Holway, D.A., Kohn, J.R., 2018. The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. *Proceedings of the Royal Society B*, **285**: 20172140.
- Hutchinson, G.E., 1957. Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, **22**: 415–427.
- Ibáñez, S., 2012. Optimizing size thresholds in a plant-pollinator interaction web: towards a mechanistic understanding of ecological networks. *Oecologia*, **170**: 233-242.
- Ireland, M.P., 1991. The effect of dietary calcium on growth, shell thickness and tissue calcium distribution in the snail *Achatina fulica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **98**: 111-116.
- Isensee, R., 1927. A study of the male genitalia of certain Anthidiine bees. *Annals of the Carnegie Museum*, **17**: 371-384.
- Iserbyt, S. & Rasmont, P., 2012. The effect of climatic variation on abundance and diversity of bumblebees: a ten year survey in a mountain hotspot. *Annales de la Société entomologique de France*, **48**: 261-273.
- Jacobson, M.M., Tucker, E.M., Mathiasson, M.E. & Rehan, S.M., 2018. Decline of bumble bees in northeastern North America, with special focus on *Bombus terricola*. *Biological Conservation*, **217**: 437-445.
- Jakobsson, A., Padrón, B. & Traveset, A., 2008. Pollen transfer from invasive *Carpobrotus* spp. to natives – A study of pollinator behaviour and reproduction success. *Biological Conservation*, **141**: 136-145.
- Jauker, F., Jauker, B., Grass, I., Steffan-Dewenter, I. & Wolters, V., 2019. Partitioning wild bee and hoverfly contributions to plant-pollinator network structure in fragmented habitats. *Ecology*, **100**: e02569.
- Jaycox, E.R., 1967. Territorial behavior among males of *Anthidium banningense* (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, **40**: 565-570.
- Johnson, R.M., Evans, J.D., Robinson, G.E. & Berenbaum, M.R., 2009. Changes in transcript abundance relating to colony collapse disorder in honey bees (*Apis mellifera*). *PNAS*, **106**: 14790-14795.
- Johnson, S.D. & Steiner, K.E., 2000. Generalization versus specialization in plant pollination systems. *Trends in Ecology & Evolution*, **15**: 140-143.
- Jordano, P., Vázquez, D. & Bascompte, J., 2009. Redes complejas de interacciones mutualistas planta-animal. En: Medel, R. *et al.* (Eds.), *Ecología y evolución de interacciones planta-animal*. Ed. Universitaria, Santiago de Chile. Pp. 17-41.
- Józán, Z., 2009. Contribution to the knowledge of the Croatian Aculeata fauna (Hymenoptera, Aculeata). *Natura Somogyiensis*, **15**: 159-180.
- Józán, Z., 2011. Checklist of Hungarian Sphecidae and Apidae species (Hymenoptera, Sphecidae and Apidae). *Natura Somogyiensis*, **19**: 177-200.
- Józán, Z., 2014. Additional data to the knowledge of the Croatian Aculeata fauna (Hymenoptera, Aculeata). *Natura Somogyiensis*, **24**: 125-148.
- Kakutani, T., Inoue, T., Kato, T. & Ichihashi, H., 1990. Insect-flower Relationship in the Campus of Kyoto University, Kyoto: An Overview of the Flowering Phenology and the Seasonal

- Pattern of Insect Visits. *Contributions from the Biological Laboratory, Kyoto University*, **27**: 465-522.
- Kaiser-Bunbury, C.N., Muff, S., Memmott, J., Müller, C.B. & Caflisch, A., 2010. The robustness of pollination networks to the loss of species and interactions: a quantitative approach incorporating pollinator behaviour. *Ecology Letters*, **13**: 442-452.
- Kandori, I., Tamaru, M. & Yokoi, T., 2010. Nesting habits of a pollinator: *Osmia orientalis* (Hymenoptera: Megachilidae). *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, **54**: 77-84.
- Kasperek, M., 2019. The cuckoo bees of the genus *Stelis* Panzer, 1806 in Europe, North Africa and the Middle East. A review and identification guide. *Entomofauna Supplementum*, **18**: 1-144.
- Kasperek, M., 2019. Bees in the genus *Rhodanthidium*: a review and identification guide. *Entomofauna, Supplementum*, **24**: 1-132.
- Kasperek, M. & Lhomme, P., 2019. Revision of the taxonomic status of *Rhodanthidium sticticum ordonezi* (Dusmet, 1915), an anthidiine bee endemic to Morocco (Apoidea: Anthidiini). *Turkish Journal of Zoology*, **43**: 43-51.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. & Miyata, T., 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, **30**: 3059-3066.
- Kearns, C.A. & Inouye, D.W., 1997. Pollinators, flowering plants, and conservation biology. *Bioscience*, **47**: 297–307.
- Kembel, S.W., Cowan, P.D., Helmus, M.R., Cornwell, W.K., Morlon, H., Ackerly, D.D, Blomberg, S.P. & Webb, C.O., 2010. Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. *Bioinformatics*, **26**: 1463–1464.
- Khaghaninia, S., Güler, Y. & Mousavi, M., 2010. Megachilids Bees (Hymenoptera: Apoidea) of Aynali Forests with four new records for Iran. *Munis Entomology & Zoology Journal*, **5**: 890–895.
- Kim, H.Y., Lee, K.Y., Lee, S.B., Kim, S.R., Hong, M.Y., Kim, D.Y. & Kim, I., 2008. Mitochondrial DNA sequence variation of the mason bee, *Osmia cornifrons* (Hymenoptera: Apidae). *International Journal of Industrial Entomology*, **16**: 75-86.
- Kirkitadze, G.J. & Japoshvili, G.O., 2015. Renewed checklist of bees (Hymenoptera: Apoidea) from Georgia. *Annals of Agrarian Science*, **13**: 20-32.
- Klein, A.M., Vaissière, B., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremer, C., Tscharnicke, T., 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops, *Proceedings of the Royal Society of London B*, **274**: 303–313.
- Klug, 1832. *Symbolae Physicae Icones et Descriptiones Insectorum quae ex Itinere per Africam Borealem et Asiam Occidentalem*, **3**. Officina Academica, Berlín.
- Koch, F., 2006. Snail shells (Mollusca, Gastropoda, Dorcasiidae) as microhabitats in South African deserts, with the description of a new chrysidid wasp (Insecta, Hymenoptera, Chrysididae) discovered by the BIOTA-Southern Africa Project. *Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde Berlin, Zoologische Reihe*, **82**: 191–197.
- Koch, F., 2010. Snail shells as shelters for arthropods in the sand dunes of the Namaqualand Sandveld (Northern Cape Province, South Africa). En: Schmiedel, U. & Jürgens, N. (Eds.), *Biodiversity in Southern Africa. Vol. 2. Patterns and processes at regional scale*. Klaus Hess Publishers, Göttingen & Windhoek. Pp. 163–166.
- Koch, J.B., 2011. *The decline and conservation status of North American bumble bees*. Utah State University, Logan, Utah, U.S.A. 133 pp.

- Krakos, K.N. & Fabricant, S.A., 2014. Generalized versus specialized pollination systems in *Oenothera* (Onagraceae). *Journal of Pollination Ecology*, **14**: 235-243.
- Krauss, S.L., Phillips, R.D., Karron, J.D., Johnson, S.D., Roberts, D.G. & Hopper, S.D., 2017. Novel consequences of bird pollination for plant mating. *Trends in Plant Science*, **22**: 395-410.
- Kremen, C., Williams, N.M., Bugg, R.L., Fay, J.P. & Thorp, R.W., 2004. The area requirements of an ecosystem service: crop pollination by native bee communities in California. *Ecology Letters*, **7**: 1109-1119.
- Krishna, A., Guimaraes Jr, P.R., Jordano, P. & Bascompte, J., 2008. A neutral-niche theory of nestedness in mutualistic networks. *Oikos*, **117**: 1609-1618.
- Kuhlmann, M., Gess, F.W., Koch, F. & Gess, S.K., 2011. Southern African osmiine bees: taxonomic notes, two new species, a key to *Wainia*, and biological observations (Hymenoptera: Anthophila: Megachilidae). *Zootaxa*, **3108**: 1-24.
- Lai, B.C.G. & Pullin, A.S., 2004. Phylogeography, genetic diversity and conservation of large copper butterfly *Lycaena dispar* in Europe. *Journal of Insect Conservation*, **8**: 27-35.
- Lampert, K.P., Pasternak, V., Brand, P., Tollrian, R., Leese, F. & Eltz, T., 2014. 'Late' male sperm precedence in polyandrous wool-carder bees and the evolution of male resource defence in Hymenoptera. *Animal Behaviour*, **90**: 211-217.
- Lecocq, T., Dellicour, S., Michez, D., Lhomme, P., Vanderplanck, M., Valterová, I., Rasplus, J.Y. & Rasmont, P., 2013a. Scent of a break-up: phylogeography and reproductive trait divergences in the red-tailed bumblebee (*Bombus lapidarius*). *BMC Evolutionary Biology*, **13**: 263.
- Lecocq, T., Vereecken, N.J., Michez, D., Dellicour, S., Lhomme, P., Valterová, I., Rasplus, J.Y. & Rasmont, P., 2013b. Patterns of genetic and reproductive traits differentiation in mainland vs. Corsican populations of bumblebees. *PLoS ONE*, **8**: e65642.
- Leigh, J.W. & Bryant, D., 2015. PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, **6**: 1110-1116.
- Lemey, P., Rambaut, A., Drummond, A.J. & Suchard, M.A., 2009. Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS Computational Biology*, **5**: e1000520.
- Leonhardt, S.D. & Blüthgen, N., 2009. A sticky affair: resin collection by Bornean stingless bees. *Biotropica*, **41**: 730-736.
- Lepeletier A.L.M., 1841. *Histoire naturelle des insectes. Hyménoptères Suites à Buffon*. Roret 2, Paris. 680 pp.
- Librado, P. & Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, **25**: 1451-1452.
- Litman, J.R., Eardley, C.D., Danforth, B.N. & Praz, C.J., 2011. Why do leafcutter bees cut leaves? New insights into the early evolution of bees. *Proceedings of the Royal Society B*, **278**: 3593-3600.
- Litman, J.R., Griswold, T. & Danforth, B.N., 2016. Phylogenetics systematics and a revised generic classification of anthidiine bees (Hymenoptera: Megachilidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **100**: 183-198.
- Lo Verde, G. & La Mantia, T., 2011. The role of native flower visitors in pollinating *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill., naturalized in Sicily. *Acta Oecologica*, **37**: 413-417.
- Louadi, K., Terzo, M., Benachour, K., Berchi, S., Aguib, S., Maghni, N. & Benarfa, N., 2008. Les Hyménoptères Apoidea de l'Algérie orientale avec une liste d'espèces et comparaison avec les faunes ouest-paléarctiques. *Bulletin de la Société entomologique de France*, **113**: 459-472.

- Loukola, O.J., Gatto, E., Híjar-Islas, A.C. & Chittka, L., 2020. Selective interspecific information use in the nest choice of solitary bees. *Animal Biology*, **70**: 215-225.
- Lucas, P.H., 1846. Histoire naturelle des animaux articulés. Troisième partie. Insectes. *Exploration scientifique de l'Algérie pendant les années 1840, 1841, 1842 publiée par ordre du Gouvernement et avec le concours d'une Commission Académique. Sciences Physique. Zoologie II*. Paris. 590 pp.
- Magnus, R.M. & Szalanski, A.L., 2010. Genetic evidence for honey bees (*Apis mellifera* L.) of Middle Eastern lineage in the United States. *Sociobiology*, **55**: 285-296.
- Magnus RM, Tripodi AD & Szalanski AL (2011) Mitochondrial DNA diversity of honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) from queen breeders in the United States. *Journal of Apicultural Science*, **55**: 5-17.
- Maharramov, M.M., Aliyev, K.A. & Bayramov, A.B., 2014. The fauna and ecology of bees of the family Megachilidae (Hymenoptera: Apoidea) in Nakhchivan Autonomous Republic of Azerbaijan. *Caucasian Entomological Bulletin*, **10**: 143-150.
- Maia, K.P., Rasmussen, C., Olesen, J.M. & Guimaraes Jr., P.R., 2019. Does the sociality of pollinators shape the organization of pollination networks? *Oikos*, **128**: 741-752.
- Maidl, F., 1923. Beiträge zur Hymenopterenfauna Dalmatiens, Montenegros und Albanien. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, **36**: 25-35.
- Maneval, H., 1936. L'*Anthidium caturigense*, son nid, sa larve. *Annales de la Société entomologique de France*, **105**: 1-5.
- Mardulyn, P. & Whitfield, J.B., 1999. Phylogenetic signal in the COI, 16S, and 28S genes for inferring relationships among genera of Microgastrinae (Hymenoptera; Braconidae): Evidence of a high diversification rate in this group of parasitoids. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **12**: 282-294.
- Martín-Hernández, R., Bartolomé, C., Chejanovsky, N., Le Conte, Y., Dalmon, A., Dussaubat, C., García-Palencia, P., Meana, A., Pinto, M.A., Soroker, V. & Higes, M., 2018. *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years postdetection perspective. *Environmental Microbiology*, **20**: 1302-1329.
- Martínez, N.D., 1992. Constant Connectance in Community Food Webs. *The American Naturalist*, **139**: 1208–1218.
- Martins, D.J. & Johnson, S.D., 2007. Hawkmoth pollination of aerangoid orchids in Kenya, with special reference to nectar sugar concentration gradients in the floral spurs. *American Journal of Botany*, **94**: 650-659.
- Maruyama, P.K., Vizentin-Bugoni, J., Oliveira, G.M., Oliveira, P.E., Dalsgaard, B., 2014. Morphological and spatio-temporal mismatches shape a neotropical savanna plant-hummingbird network. *Biotropica*, **46**: 740-747.
- Matache, I. & Ban, C.M., 2006. Family Megachilidae (Hymenoptera: Apoidea) in Dobrogea (Romania). *Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"*, **49**: 297-306.
- Matias, D.M.S., Leventon, J., Rau, A.L., Borgemeister, C. & von Wehrden, H., 2017. A review of ecosystem service benefits from wild bees across social contexts. *Ambio*, **46**: 456-467.
- Mavromoustakis, G.A., 1939. XLIII.—On the Anthidiine bees of Hissar Mountains (Tadzhikistan). *The Annals and Magazine of Natural History*, **11**: 376-388.
- Mavromoustakis, G.A., 1954. New and little-known bees of the subfamily Anthidiinae (Apoidea). Part VIII. *The Annals and Magazine of Natural History*, **12**: 395-400.
- Mavromoustakis, G.A., 1955. On the bees (Hymenoptera, Apoidea) of Lebanon. Part I. *The Annals and Magazine of Natural History*, **12**: 326-336.

- Mavromoustakis, G.A., 1958. Bees (Hymenoptera, Apoidea) of Attica (Greece), Part I. *The Annals and Magazine of Natural History*, **13**: 433-447.
- Mavromoustakis, G.A., 1959. A contribution to our knowledge of the bees (Hymenoptera, Apoidea) of the Island of Rhodos (Greece). Part I. *The Annals and Magazine of Natural History*, **17**: 281-302.
- Mavromoustakis, G.A., 1962. On the bees (Hymenoptera, Apoidea) of Lebanon, Part III. *The Annals and Magazine of Natural History*, **13**: 647-655.
- Mavromoustakis, G.A., 1968. Missione Giordani Soika in Iran 1965. New and little known bees of the family Megachilidae (Hymenoptera, Apoidea). *Bollettino del Museo Civico di Storia Naturale di Venezia*, **18**: 125-149.
- Médail, F. & Diadema, K., 2009. Glacial refugia influence plant diversity patterns in the Mediterranean Basin. *Journal of Biogeography*, **36**: 1333-1345.
- Medan, D., Montaldo, N.H., Devoto, M., Maniese, A., Vasellati, V., Roitman, G.G. & Bartoloni, N.H., 2002. Plant-pollinator relationships at two altitudes in the Andes of Mendoza, Argentina. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, **34**: 233-241.
- Meier, E.S., Kienast, F., Pearman, P.B., Svenning, J.C., Thuiller, W., Araújo, M.B., Guisan, A. & Zimmermann, N.E., 2010. Biotic and abiotic variables show little redundancy in explaining tree species distributions. *Ecography*, **33**: 1038-1048.
- Mello, M.A., Bezerra, E.L. & Machado, I.C., 2013. Functional roles of Centridini oil bees and Malpighiaceae oil flowers in biome-wide pollination networks. *Biotropica*, **45**: 45-53.
- Memmot, J., Craze, P.G., Waser, N.M. & Price, M.V., 2007. Global warming and the disruption of plant-pollinator interactions. *Ecology Letters*, **10**: 710-717.
- Michener, C.D., 1948. The generic classification of the anthidiine bees. *American Museum Novitates*, **1381**: 1-29.
- Michener, C.D., 2007. *The Bees of the World*. 2nd Edition. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland. 953 pp.
- Michener, C.D. & Griswold, T.L., 1994. The classification of Old World Anthidiini (Hymenoptera, Megachilidae). *The University of Kansas Science Bulletin*, **55**: 299-327.
- Miller, M.A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T., 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*: 1-8. New Orleans, Louisiana.
- Mocsáry, A., 1884. Species generis *Anthidium* Fabr. regionis palaearcticae. *Természetrájsi Füzetek*, **8**: 250-278.
- Montero-Castaño, A., Ortiz-Sánchez, F.J. & Vilà, M., 2016. Mass flowering crops in a patchy agricultural landscape can reduce bee abundance in adjacent shrublands. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **223**: 22-30.
- Morawitz, F., 1876. Zur bienenfauna der Caucasusländer. *Horae Societatis Entomologicae Rossicae*, **12**: 3-69.
- Morawitz, F., 1893. Supplement zur Bienenfauna Turkestans. *Horae Societatis Entomologicae Rossicae*, **28**: 1-87.
- Moreno-Rueda, G. & Collantes-Martín, E., 2007. Ciclo anual de actividad del caracol *Sphincterochila (Albea) candidissima* (Draparnaud, 1801) en un medio semiárido. *Iberus*, **25**: 49-56.
- Moreno-Rueda, G., Marfil-Daza, C., Ortiz-Sánchez, F.J. & Melic, A., 2008. Weather and the use of empty gastropod shells by arthropods. *Annales de la Société Entomologique de France*, **44**: 373-377.

- Morice, F.D., 1916. List of some Hymenoptera from Algeria and the M'Zab Country. *Nobitates Zoologicae*, **23**: 241-246.
- Mueller, U.G., Schultz, T.R., Currie, C.R. & Malloch, D., 2001. The Origin of the Attine Ant-Fungus Mutualism. *The Quarterly Review of Biology*, **76**: 169-197.
- Müller, A., 1996. Host-Plant Specialization in Western Palearctic Anthidine Bees (Hymenoptera: Apoidea: Megachilidae). *Ecological Monographs*, **66**: 235-257.
- Müller, A. & Mauss, V., 2016. Palaeartic *Hoplitis* bees of the subgenera *Formicapis* and *Tkalcua* (Megachilidae, Osmiini): Biology, taxonomy and key to species. *Zootaxa*, **4127**: 105-120.
- Müller, A., Praz, C. & Dorchin, A., 2018. Biology of Palaeartic *Wainia* bees of the subgenus *Caposmia* including a short review on snail shell nesting in osmiine bees (Hymenoptera, Megachilidae). *Journal of Hymenoptera Research*, **65**: 61-89.
- Muñoz, I., Garrido-Bailón, E., Martín-Hernández, R., Meana, A., Higes, M. & De la Rúa, P., 2008. Genetic profile of *Varroa destructor* infesting *Apis mellifera iberiensis* colonies. *Journal of Apicultural Research*, **47**: 310-313.
- Murao, R., Tadauchi, O. & Miyanaga, R., 2015. The bee tribe Anthidiini (Hymenoptera, Megachilidae) collected from Central Asia. *Japanese Journal of Systematic Entomology*, **21**: 7-12.
- Muscarella, R., Galante, P.J., Soley-Guardia, M., Boria, Kass, J.M., Uriarte, M. & Anderson, R.P., 2014. ENMeval: An R package for conducting spatially independent evaluations and estimating optimal model complexity for Maxent ecological niche models. *Methods in Ecology and Evolution*, **5**: 1198-1205.
- Nachtigall, W., 1997a. Flight behaviour of the Mediterranean wool carder bee *Anthidium septemdentatum* within its macchia territories (Hymenoptera: Megachilidae). *Entomologia Generalis*, **22**: 1-12.
- Nachtigall, W., 1997b. Territorial defence by male wool carder bee *Anthidium septemdentatum* (Hymenoptera: Megachilidae), directed towards giant carpenter bees, *Xylocopa violacea* (Hymenoptera: Megachilidae). *Entomologia Generalis*, **22**: 119-127.
- Nadig, A., 1933. Beiträge zur Kenntnis der Hymenopterenfauna von Marokko und Westalgerien: Erster Teil. Apidae, Sphecidae, Vespidae. *Jahresbericht der Naturforschenden Gesellschaft Graubünden*, **71**: 31-107.
- Nadimi, A., Talebi, A.A., Zhu, C.D. & Fatihpour, Y., 2014. Study of the tribe Anthidiini (Hymenoptera: Megachilidae) in northern Iran, with the description of a new species. *North-western Journal of Zoology*, **10**: 413-424.
- Neumann, K. & Seidelmann, K., 2006. Microsatellites for the inference of population structures in the Red Mason bee *Osmia rufa* (Hymenoptera, Megachilidae). *Apidologie*, **37**: 75-83.
- Nieto, A., Roberts, S.P.M., Kemp, J., Rasmont, P., Kuhlmann, M., García Criado, M., Biesmeijer, J.C., Bogusch, P., Dathe, H.H., De la Rúa, P., De Meulemeester, T., Dehon, M., Dewulf, A., Ortiz-Sánchez, F.J., Lhomme, P., Pauly, A., Potts, S.G., Praz, C., Quaranta, M., Radchenko, V.G., Scheuchl, E., Smit, J., Straka, J., Terzo, M., Tomozii, B., Window, J. & Michez, D., 2014. *European Red List of bees*. Luxembourg: Publication Office of the European Union.
- Nogales, M., Delgado, J.D. & Medina, F.M., 2003. Shrikes, lizards and *Lycium intricatum* (Solanaceae) fruits: a case of indirect seed dispersal on an oceanic island (Alegranza, Canary Islands). *Journal of Ecology*, **86**: 866-871.

- O'Donnell, M.S. & Ignizio, D.A., 2012. Bioclimatic predictors for supporting ecological applications in the conterminous United States. *U.S. Geological Survey Data Series*, **691**: 10 pp.
- Oertli, S., Müller, A. & Dorn, S., 2005. Ecological and seasonal patterns in the diversity of a species-rich bee assemblage (Hymenoptera: Apoidea: Apiformes). *European Journal of Entomology*, **102**: 53-63.
- Ollerton, J., Winfree, R. & Tarrant, S., 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, **120**: 321-326.
- Olesen, J.M., Bascompte, J., Dupont, Y.L., Elberling, H., Rasmussen, C. & Jordano, P., 2010. Missing and forbidden links in mutualist networks. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **278**: 725-732.
- Olesen, J.M., Bascompte, J., Dupont, Y.L. & Jordano, P., 2007. The modularity of pollination networks. *PNAS*, **104**: 19891-19896.
- Olesen, J.M., Damgaard, C.F., Fuster, F., Heleno, R.H., Nogales, M., Rumeu, B., Trøjelsgaard, K., Vargas, P. & Traveset, A., 2018. Disclosing the double mutualist role of birds on Galápagos. *Scientific Reports*, **8**: 57.
- Olesen, J.M. & Valido, A., 2003. Lizards as pollinators and seed dispersers: an island phenomenon. *Trends in Ecology & Evolution*, **1**: 177-181.
- Ollerton, J., Winfree, R. & Tarrant, S., 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, **120**: 321-326.
- Ornosa, C. & Ortiz-Sánchez, F.J., 2004. *Hymenoptera, Apoidea, I. In: Fauna Ibérica, vol. 23. Ramos, M.A. et al. (eds.) Museo Nacional de Ciencias Naturales, CSIC. Madrid.*
- Ornosa, C. & Ortiz Sánchez, F.J., 2014a. *Rhodanthidium acuminatum*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2014*: e.T19198367A21144901. ISSN 2307-8235 (online)
<https://www.iucnredlist.org/species/19198367/21144901>
- Ornosa, C. & Ortiz Sánchez, F.J., 2014b. *Rhodanthidium caturigense*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2014*: e.T19199131A21144823. ISSN 2307-8235 (online)
<https://www.iucnredlist.org/species/19199131/21144823>
- Ornosa, C. & Ortiz Sánchez, F.J., 2014c. *Rhodanthidium ducale*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2014*: e.T19199270A21144818. ISSN 2307-8235 (online)
<https://www.iucnredlist.org/species/19199270/21144818>
- Ornosa, C. & Ortiz Sánchez, F.J., 2014d. *Rhodanthidium infuscatum*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2014*: e.T19199795A21144812. ISSN 2307-8235 (online)
<https://www.iucnredlist.org/species/19199795/21144812>
- Ornosa, C. & Ortiz Sánchez, F.J., 2014e. *Rhodanthidium septemdentatum*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2014*: e.T19198488A21144729. ISSN 2307-8235 (online)
<https://www.iucnredlist.org/species/19198488/21144729>
- Ornosa, C. & Ortiz Sánchez, F.J., 2014f. *Rhodanthidium siculum*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2014*: e.T19199061A21144724. ISSN 2307-8235 (online)
<https://www.iucnredlist.org/species/19199061/21144724>
- Ornosa, C. & Ortiz Sánchez, F.J., 2014g. *Rhodanthidium sticticum*. *The IUCN Red List of Threatened Species 2014*: e.T19198536A21144719. ISSN 2307-8235 (online)
<https://www.iucnredlist.org/species/19198536/21144719>
- Ornosa, C., Ortiz-Sánchez, F.J. & Torres, F., 2008. Catálogo de los Megachilidae del Mediterráneo Occidental (Hymenoptera, Apoidea). III. Anthidiini y Dioxyini. *Graellsia*, **64**: 61-86.

- Ornosa, C., Torres, F. & De la Rúa, P., 2017. Updated list of bumblebees (Hymenoptera: Apidae) from the Spanish Pyrenees with notes on their decline and conservation status. *Zootaxa*, **4237**: 41–77.
- Ortiz-Sánchez, F.J., 1990. Contribución al conocimiento de las abejas del género *Anthidium* Fabricious, 1804 en Andalucía (Hym., Apoidea, Megachilidae). *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **14**: 251-260.
- Ortiz-Sánchez, F.J., 2011. Lista actualizada de las especies de abejas de España (Hymenoptera: Apoidea: Apiformes). *Boletín de la Sociedad Entomológica Aragonesa (S.E.A.)*, **49**: 265-281.
- Otterstatter, M.C. & Thomson, J.D., 2008. Does pathogen spillover from commercially reared bumble bees threaten wild pollinators? *PLoS ONE*, **3**: e2771.
- Ovaskainen, O., Roy, D.B., Fox, R. & Anderson, B.J., 2016. Uncovering hidden spatial structure in species communities with spatially explicit joint species distribution models. *Methods in Ecology and Evolution*, **7**: 428-436.
- Özbek, H., 2013. Distribution of the tribe Osmiini bees (Hymenoptera: Megachilidae) of Turkey Part II: the genera *Haetosmia*, *Osmia* and *Protosmia*. *Atatürk University, Journal of the Agricultural Faculty*, **44**: 121-143.
- Özbek, H. & Zanden, G., 1993. A preliminary review of the Megachilidae of Turkey Part III. The Anthidiini (Hymenoptera: Apoidea). *Turkish Journal of Entomology*, **17**: 193-207.
- Özbek, H. & Zanden, G., 1996. A preliminary review of the Megachilidae of Turkey, Part V. Part I-IV. The Anthidiini (Hymenoptera: Apoidea). *Turkish Journal of Entomology*, **20**: 3-17.
- Ozgo, M., Örstan, A., Kirschenstein, M. & Cameron, R., 2016. Dispersal of land snails by sea storms. *Journal of Molluscan Studies*, **82**: 341-343.
- Pasteels, J.J., 1969. New Anthidiinae (Hymenoptera, Apoidea, Megachilidae) from the Mediterranean area and from the Near East. *Israel Journal of Entomology*, **4**: 409-434.
- Pasteels, J.J., 1977. Une revue comparative de l'ethologie des Anthidiinae nidificateurs de l'ancien monde (Hymenoptera, Megachilidae). *Annales de la Société Entomologique de France*, **13**: 651-677.
- Pastor, F., Estrela, M.J., Peñarrocha, D. & Millán, M., 2001. Torrential rains on the Spanish Mediterranean coast: modeling the effects of the sea surface temperature. *Journal of Applied Meteorology*, **40**: 1180-1195.
- Pauw, A., Kahnt, B., Kuhlmann, M., Michez, D., Montgomery, G.A., Murray, E. & Danforth, B.N., 2017. Long-legged bees make adaptive leaps: linking adaptation to coevolution in a plant–pollinator network. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **284**: 20171707.
- Paxton, R.J., 2005. Male mating behaviour and mating systems of bees: an overview. *Apidologie*, **36**: 145-156.
- Payne, A., Schildroth, D.A. & Starks, P.T., 2011. Nest site selection in the European wool-carder bee, *Anthidium manicatum*, with methods for an emerging model species. *Apidologie*, **42**: 181-191.
- Pearson, R.G., Raxworthy, C.J., Nakamura, M. & Peterson, A.T., 2007. Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography*, **34**: 102–117.
- Pearson, R.G., Thuiller, W., Araújo, M.B., Martinez-Meyer, E., Brotons, L., McClean, C., Segurado, P., Dawson, T.P. & Lees, D.C., 2006. Model-based uncertainty in species range prediction. *Journal of Biogeography*, **33**: 1704–1711.

- Penado, A., Rebelo, H. & Goulson, D., 2016. Spatial distribution modelling reveals climatically suitable areas for bumblebees in undersampled parts of the Iberian Peninsula. *Insect Conservation and Diversity*, **9**: 391-401.
- Penha, R.E.S., Gaglianone, M.C., Almeida, F.S., Boff, S.V. & Sofia, S.H., 2014. Mitochondrial DNA of *Euglossa iopoecila* (Apidae, Euglossini) reveals two distinct lineages for this orchid bee species endemic to the Atlantic Forest. *Apidologie*, **46**: 364-358.
- Pérez-Íñigo, C., 1981. Nota sobre los Ápidos (Hym., Apoidea) de los Montes Universales, Sierras de Cuenca y Albarracín (provs. de Cuenca y Teruel). *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **4**: 43-49.
- Petanidou, T., 1991. Pollinating fauna of a phryganic ecosystem. *Verslagen en technische gegevens*, **59**: 1-12.
- Petanidou, T. & Ellis, W., 1993. Pollinating fauna of a phryganic ecosystem: composition and diversity. *Biodiversity Letters*, **1**: 9-22.
- Petanidou, T. & Lamborn, E., 2005. A land for flowers and bees: studying pollination ecology in Mediterranean communities. *Plant Biosystems*, **3**: 279-294.
- Peters, R.S., Krogmann, L., Mayer, C., Donath, A., Gunkel, S., Meusemann, K., Kozlov, A., Podsiadlowski, L., Petersen, M., Lanfear, R., Diez, P.A., Heraty, J., Kjer, K.M., Klopstein, S., Meier, R., Polidori, C., Schmitt, T., Liu, S., Zhou, X., Wappler, T., Rust, J., Misof, B. & Niehuis, O., 2017. Evolutionary history of the Hymenoptera. *Current Biology*, **27**: 1013-1018.
- Phillips, S., 2017. *A Brief Tutorial on Maxent*. Disponible en: http://biodiversityinformatics.amnh.org/open_source/maxent.
- Phillips, S., Anderson, R. & Schapire, R., 2006. Maximum entropy modelling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, **190**: 231-259.
- Phillips, S. & Dudík, M., 2008. Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*, **31**: 161-175.
- Phillips, S., Anderson, R.P., Dudík, M., Schapire, R.E. & Blair, M.E., 2017. Opening the black box: an open-source release of Maxent. *Ecography*, **40**: 887-893.
- Pilgrim, E.M., von Dohlen, C.D. & Pitts, J.P., 2008. Molecular phylogenetics of Vespoidea indicate paraphyly of the superfamily and novel relationships of its component families and subfamilies. *Zoological Scripta*, **37**: 539-360.
- Ploquin, E.F., Herrera, J.M. & Obeso, J.R., 2013. Bumblebee community homogenization after uphill shifts in montane areas of northern Spain. *Oecologia*, **173**: 1649-1660.
- Pollock, L.J., Tingley, R., Morris, W.K., Golding, N., O'Hara, R.B., Parris, K.M., Vesk, P.A. & McCarthy, M.A., 2014. Understanding co-occurrence by modelling species simultaneously with a Joint Species Distribution Model (JSDM). *Methods in Ecology and Evolution*, **5**: 397-406.
- Ponchau, O., Iserbyt, S., Verhaeghe, J.C. & Rasmont, P., 2005. Is the caste-ratio of the oligolectic bumblebee *Bombus gerstaeckeri* Morawitz (Hymenoptera: Apidae) biased to queens? *Annales de la Société entomologique de France (N.S.)*, **42**: 207-214.
- Popov, A., 1950. Generic groupings of the mid-Asian bees of the subfamily Anthidiinae. *Doklady Akademii Nauk SSSR*, **70**: 315-318.
- Porto, D.S., Vilhelmsen, L. & Almeida, E.A.B., 2016. Comparative morphology of the mandibles and head structures of corbiculate bees (Hymenoptera: Apidae: Apini). *Systematic Entomology*, **41**: 339-368.
- Posada, D., 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, **25**: 1253-1256.

- Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O. & Kunin, W.E., 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, **25**: 345-353.
- Potts, S.G., Vulliamy, B., Roberts, S., O'Toole, C., Dafni, A., Neeman, G. & Willmer, P., 2005. Roles of nesting resources in organising diverse bee communities in a Mediterranean landscape. *Ecological entomology*, **30**: 78-85.
- Praz, C.J., Müller, A., Danforth, B.N., Griswold, T.L., Widmer, A. & Dorn, S., 2008. Phylogeny and biogeography of bees of the tribe Osmiini (Hymenoptera: Megachilidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**: 185-197.
- Pyke, G.H., Thomson, J.D., Inouye, D.W. & Miller, T.J., 2016. Effects of climate change on phenologies and distributions of bumble bees and the plants they visit. *Ecosphere*, **7**: e01267.
- QGIS Development Team, 2009. *QGIS Geographic Information System*. Open Source Geospatial Foundation. Disponible en: <https://www.qgis.org>.
- Radoszkowski, O., 1876. Matériaux pour servir à une faune hyménoptérologique de la Russie (Suite). *Horae Societatis Entomologicae Rossicae*, **XII**: 82-110.
- Rambaut, A., 2012. *FigTree: tree figure drawing tool version 1.4.4*. Disponible en: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>.
- Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G. & Suchard, M.A., 2018. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, **67**: 901-904.
- Ramirez, N. & Brito, Y., 1992. Pollination biology in a palm swamp community in the Venezuelan Central Plains. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **110**: 277-302.
- Rasmont, P., Ebmer, P.A., Banaszak, J. & Zanden, G., 1995. Hymenoptera Apoidea Gallica. Liste taxonomique des abeilles de France, de Belgique, de Suisse et du Grand-Duché de Luxembourg. *Bulletin de la Société entomologique de France*, **100**: 1-98.
- Rasmussen, C. & Cameron, S.A., 2010. Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal. *Biological Journal of the Linnean Society*, **99**: 206-232.
- Rau, P., 1937. The life-history of *Osmia lignaria* and *O. cordata*, with notes on *O. conjuncta*. *Annals of the Entomological Society of America*, **30**: 324-343.
- Regan, E.C., Santini, L., Ingwall-King, L., Hoffmann, M., Rondini, C., Symes, A., Taylor, J. & Butchart, S.H.M., 2015. Global trends in the status of bird and mammal pollinators. *Conservation Letters*, **8**: 397-403.
- Renner, S.S. & Schaefer, H., 2010. The evolution and loss of oil-offering flowers: new insights from dated phylogenies for angiosperms and bees. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **365**: 423-435.
- Roberts, S.P., Potts, S.G., Biesmeijer, K., Kuhlmann, M., Kunin, B. & Ohlemüller, R., 2011. Assessing continental-scale risks for generalist and specialist pollinating bee species under climate change. *BioRisk*, **6**: 1-18.
- Rodrigo-Gómez, S., Ornos, C., Selfa, J., Guara, M. & Polidori, C., 2016. Small sweat bees (Hymenoptera: Halictidae) as potential major pollinators of melon (*Cucumis melo*) in the Mediterranean. *Entomological Science*, **19**: 55-66.
- Rodríguez-Rodríguez, M.C. & Valido, A., 2008. Opportunistic nectar-feeding birds are effective pollinators of bird-flowers from Canary Islands: experimental evidence from *Isoplexis canariensis* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany*, **95**: 1408-1415.

- Rodríguez-Sánchez, F., Pérez-Barrales, R., Ojeda, F., Vargas, P., & Arroyo, J., 2008. The Strait of Gibraltar as a melting pot for plant biodiversity. *Quaternary Science Reviews*, **27**: 2100-2117.
- Romero, D., Ornos, C. & Vargas, P., 2020a. Where and why? Bees, snail shells and climate: Distribution of *Rhodanthidium* (Hymenoptera: Megachilidae) in the Iberian Peninsula. *Entomological Science*, DOI: /10.1111/ens.12420.
- Romero, D., Ornos, C., Vargas, P. & Olesen, J.M., 2020b. Solitary bees (Hymenoptera, Apoidea) as connectors in pollination networks: the case of *Rhodanthidium*. *Apidologie*, DOI: 10.1007/s13592-020-00765-2.
- Romero, D., Ornos, C. & Vargas, P., 2020c. Comparative phylogeography of three closely related species of *Rhodanthidium* (Hymenoptera: Megachilidae) across the western Mediterranean. *Molecular Ecology* (en evaluación).
- Romero, D., Vargas, P. & Ornos, C., 2020d. Biology of the red snail-nesting bee, *Rhodanthidium sticticum* (Fabricius, 1787): an Anthidiini with personality. *Graellsia* (en evaluación).
- Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* **19**, 1572-1574. Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, **19**: 1572-1574.
- Rosenbaum, G., Lister, G.S. & Duboz, C., 2002. Reconstruction of the tectonic evolution of the western Mediterranean since the Oligocene. In: Rosenbaum G & Lister GS. Reconstruction of the evolution of the Alpine-Himalayan Orogen. *Journal of the Virtual Explorer*, **8**: 107 - 130.
- Roubik, D.W. & Camargo, J.M.F., 2012. The Panama microplate, island studies and relictual species of *Melipona* (*Melikerria*) (Hymenoptera: Apidae: Meliponini). *Systematic Entomology*, **37**: 189-199.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez del Barrio, J.C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S.E. & Sánchez-Gracia, A., 2017. DnaSP 6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, **34**: 3299-3302.
- RStudio Team, 2016. *RStudio: Integrated Development for R*. RStudio, Inc.
- Ruiz, A., Cárcaba, A., Porras, A. & Arrébola, J.R., 2006. *Caracoles terrestres de Andalucía. Guía y manual de identificación*. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla, España. 303 pp.
- Rust, R.W., Vaissière, B.E. & Westrich, P., 2003. Pollinator biodiversity and floral resource use in *Ecballium elaterium* (Cucurbitaceae), a Mediterranean endemic. *Apidologie*, **34**: 29-42.
- Sáinz-Ollero, H. & Moreno-Saiz, J.C., 2002. Flora vascular endémica española. En: Pineda, de Miguel, Casado & Montalvo (Eds.) *La Diversidad Biológica de España*. Pearson Educación SA, Madrid, Spain: 175-195.
- Sangermano, F. & Eastman, J.R., 2007. Linking GIS and Ecology. The use of Mahalanobis Typicalities to model species distribution. En: Buzai, G.D. (Ed.) *Memorias XI Conferencia Iberoamericana de Sistemas de Información Geográfica (CONFIBSIG)*; May 2007, Buenos Aires, Argentina. Universidad Nacional de Luján – Sociedad Iberoamericana de Sistemas de Información Geográfica, Buenos Aires.
- Sanz, N., Araguas, R.M., Vidal, O. & Viñas, J., 2015. Glacial refuges for three-spined stickleback in the Iberian Peninsula: mitochondrial DNA phylogeography. *Freshwater Biology*, **60**: 1794-1809.

- Saunders, E., 1904. XXII. Hymenoptera Aculeata from Majorca (1901) and Spain (1901-2). *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, **52**: 591-666.
- Saunders, E., 1908. Hymenoptera Aculeata collected in Algeria. Part III – Anthophila. *Transactions of the Entomological Society of London*, **2**: 177-273.
- Schenck, M., Krauss, J. & Holzschuh, A., 2018a. Desynchronizations in bee-plant interactions cause severe fitness losses in solitary bees. *Journal of Animal Ecology*, **87**: 139-149.
- Schenck, M., Mitesser, O., Hovestadt, T. & Holzschuh, A., 2018b. Overwintering temperature and body condition shift emergence dates of spring-emerging solitary bees. *PeerJ*, **16**: e4721.
- Schlick-Steiner, B.C., Steiner, F.M. & Pautasso, M., 2008. Ants and people: a test of two mechanisms potentially responsible for the large-scale human population-biodiversity correlation for Formicidae in Europe. *Journal of Biogeography*, **35**: 2195–2206.
- Schmid-Egger, C., 2011. Hymenoptera Aculeata from "Parc national du Mercantour" (France) and "Parco delle Alpi Marittime" (Italy) in the south-western Alps. *Ampulex - Zeitschrift für aculeate Hymenopteren*, **3**: 13-50.
- Schoener, T.W., 1968. The anolis lizards of Bimini: resource partitioning in a complex fauna. *Ecology*, **49**: 704-726.
- Schremmer, F., 1960: Harzbienen – *Anthidium sticticum* als Brutschmarotzer von *Anthidium septemdentatum*. *Österreichische Mediathek*. Disponible en: <https://www.mediathek.at/atom/018AA15D-253-019DB-00000484-0189A3E5>.
- Schulthess, A., 1924. Contribution à la connaissance de la faune des Hyménoptères de l'Afrique du Nord. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord*, **15**: 293-320.
- Schurr, L., Affre, L., Flacher, F., Tatoni, T., Le Mire Pecheux, L. & Geslin, B., 2019. Pollination insights for the conservation of a rare threatened plant species, *Astragalus tragacantha* (Fabaceae). *Biodiversity and Conservation*, **28**: 1389-1409.
- Schwarz, M., Gusenleitner, F. & Mazzucco, K., 1999. Weitere angaben zur bienenfauna Österreichs. Vorstudie zu einer gesamtbearbeitung der bienen Österreichs III (Hymenoptera, Apidae). *Entomofauna*, **20**: 461 – 524.
- Schwarz, M., Gusenleitner, F., Westrich, P. & Dathe, H.H., 1996. Katalog der Bienen Österreichs, Deutschlands und der Schweiz (Hymenoptera, Apidae). *Entomofauna*, **Supplement 8**: 1-398.
- Seager, R., Liu, H., Henderson, N., Simpson, I., Kelley, C., Shaw, T., Kushnir, Y. & Ting, M., 2014. Causes of increasing aridification of the Mediterranean Region in response to rising greenhouse gases. *Journal of Climate*, **27**: 4655-4676.
- Sedivy, C., Praz, C.J., Müller, A., Widmer, A. & Dorn, S., 2008. Patterns of host-plant choice in bees of the genus *Chelostoma*: the constraint hypothesis of host-range evolution in bees. *Evolution*, **62**: 2487–2507.
- Severinghaus, L.L., Kurtak, B.H. & Eickwort, G.C., 1981. The reproductive behavior of *Anthidium manicatum* (Hymenoptera: Megachilidae) and the significance of size for territorial males. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **9**: 51-58.
- Silva, D.P., Dew, R.M., Vilela, B., Stevens, M.I. & Schwarz, R.S., 2018. No deaths in the desert: predicted responses of an arid-adapted bee and its two nesting trees suggest resilience in the face of warming climates. *Insect Conservation and Diversity*, **11**: 449-463.
- Silva, D.P., Gonzalez, V.H., Melo, G.A.R., Lucia, M., Alvarez, L.J., De Marco, Jr P., 2014. Seeking the flowers for the bees: Integrating biotic interactions into niche models to assess the

- distribution of the exotic bee species *Lithurgus huberi* in South America. *Ecological Modelling*, **273**: 200-209.
- Simmons, B.I., Sutherland, W.J., Dicks, L.V., Albrecht, J., Farwig, N., García, D., Jordano, P. & González-Varo, J.P., 2018. Moving from frugivory to seed dispersal: Incorporating the functional outcomes of interactions in plant-frugivore networks. *Journal of Animal Ecology*, **87**: 995-1007.
- Smit, J., 2003. Een gynandromorf van de wolbij *Anthidium infuscatum*. – Bzzz, *Nieuwsbrief sectie Hymenoptera van de Nederlandse Entomologische Vereniging*, **17**: 20–22.
- Smith, B.J. & Djajasasmita, M., 1988. The land molluscs of the Krakatau Islands, Indonesia. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* **323**: 379-400.
- Soberón, J. & Nakamura, M., 2009. Niches and distributional areas: concepts, methods, and assumptions. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **106**: 19644– 19650.
- Soltis, D.E., Bell, C.D., Kim, S. & Soltis, P.S., 2008. Origin and early evolution of angiosperms. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1133**: 3-25.
- Solvi, C., Gutiérrez Al-Khudhairy, S. & Chittka, L., 2020. Bumble bees display cross-modal object recognition between visual and tactile senses. *Science*, **367**: 910-912.
- Soro, A., Field, J., Bridge, C., Cardinal, S.C. & Paxton, R.J., 2010. Genetic differentiation across the social transition in a socially polymorphic sweat bee, *Halictus rubicundus*. *Molecular Ecology*, **19**: 3351-3363.
- Spaethe, J., Tautz, J. & Chittka, L., 2001. Visual constraints in foraging bumblebees: Flower size and color affect search time and flight behavior. *PNAS*, **98**: 3898-3903.
- Spengler A, Hartmann P, Buchori D & Schulze CH (2011) How island size and isolation affect bee and wasp ensembles on small tropical islands: a case study from Kepulauan Seribu, Indonesia. *Journal of Biogeography* **38**, 247-258.
- Standfuss, K. & Standfuss, L., 2012. Zur aktuellen Bienenfauna der Ölbaumzone in SO-Thessalien/Griechenland (Hymenoptera: Apoidea: Apiformes). 6. Nachträge, Korrekturen, Überblick. *Entomofauna*, **33**: 449-456.
- Standfuss, K., Standfuss, L. & Schwarz, M., 2003. Zur aktuellen Bienenfauna der Ölbaumzone in SO-Thessalien/Griechenland (Hymenoptera: Apoidea: Apiformes). 1. Megachilidae. *Entomofauna*, **24**: 293-304.
- Stang, M., Klinkhammer, G.L. & van der Meijden, E., 2006. Size constraints and flower abundance determine the number of interactions in a plant-flower visitor web. *Oikos*, **112**: 111-121.
- Stang, M., Klinkhammer, G.L. & van der Meijden, E., 2007. Asymmetric specialization and extinction risk in plant-flower visitor webs: a matter of morphology or abundance? *Oecologia*, **151**: 442-453.
- Stang, M., Klinkhammer, G.L., Waser, N.M., Stang, I. & van der Meijden, E., 2009. Size specific interaction patterns and size matching in a plant-pollinator interaction web. *Annals of Botany*, **103**: 1459-1469.
- Stöckl, P., 2000. Synopsis der Megachilinae Nord- und Südtirols (Österreich, Italien) (Hymenoptera: Apidae). *Berichte des naturwissenschaftlichen-medizinischen Verein Innsbruck*, **87**: 273-306.
- Straka, J., Bogusch, P., & Přidal, A., 2007. Apoidea: Apiformes (včely). En: Bogusch, P., Straka, J. & Kment, P. (Eds.), Annotated checklist of the Aculeata (Hymenoptera) of the Czech Republic and Slovakia. *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae*, **Supplementum 11**: 241-299.

- Sugiura, N., 1991. Male territoriality and mating tactics in the wool-carder bee, *Anthidium septemspinosum* Lepeletier (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of Ethology*, **9**: 95-103.
- Szalanski AL, Tripodi AD, Trammel CE & Downey D (2016) Mitochondrial DNA genetic diversity of honey bees, *Apis mellifera*, in Hawaii. *Apidologie*, **47**: 679-687.
- Techer MA, Clémencet J, Simiand C, Preaduth S, Azali HA, Reynaud B & Hélène D (2017) Large-scale mitochondrial DNA analysis of native honey bee *Apis mellifera* populations reveals a new African subgroup private to the South West Indian Ocean islands. *BMC Genetics*, **18**: 53.
- Templeton, A.R., Crandall, K.A. & Sing, C.F., 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, **132**: 619-633.
- Thorp R.W., 2000. The collection of pollen by bees. *Pollen and Pollination* (ed. By Dafni, A., Hesse, M. & Pacini, E.), Springer, Vienna. Pp. 211-223.
- Thorson, J.T., Iannelli, J.N., Larsen, E.A., Ries, L., Scheuerell, M.D., Szuwalski, C. & Zipkin, E.F., 2016. Joint dynamic species distribution models: a tool for community ordination and spatio-temporal monitoring. *Global Ecology and Biogeography*, **25**: 1144-1158.
- Tikhonov, G., Abrego, N., Dunson, D. & Ovaskainen, O., 2017. Using joint species distribution models for evaluating how species-to-species associations depend on the environmental context. *Methods in Ecology and Evolution*, **8**: 443-452.
- Torné-Noguera, A., Rodrigo, A., Arnan, X., Osorio, S., Barril-Graells, H., Da Rocha-Filho, L.C. & Bosch, J., 2014. Determinants of spatial distribution in a bee community: nesting resources, flower resources, and body size. *PLoS ONE*, **9**: e97255.
- Torres, E., Iriondo, J.M., Escudero, A. & Pérez, C., 2003. Analysis of within-population spatial genetic structure in *Antirrhinum microphyllum* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany*, **90**: 1688-1695.
- Torres, E., Iriondo, J.M. & Pérez, C., 2002. Vulnerability and determinants of reproductive success in the narrow endemic *Antirrhinum microphyllum* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany*, **89**: 1171-1179.
- Torres, E., Ruiz, C., Iriondo, J.M. & Pérez, C., 2001. Pollination ecology of *Antirrhinum microphyllum* Rothm. (Scrophulariaceae). *Boccone*, **13**: 543-547.
- Torretta, J.P., Durante, S.P. & Basilio, A.M., 2014. Nesting ecology of *Megachile (Chrysosarus) catamarcensis* Schrottky (Hymenoptera: Megachilidae), a *Prosopis*-specialist bee. *Journal of Apicultural Research*, **53**: 590-598.
- Traveset, A. & Navarro, L., 2018. Plant reproductive ecology and evolution in the Mediterranean islands: state of the art. *Plant Biology*, **20**: 63-77.
- Traveset, A., Olesen, J.M., Nogales, M., Vargas, P., Jaramillo, P., Antolín, E., Trigo, M.M. & Heleno, R., 2015. Bird-flower visitation networks in the Galápagos unveil a widespread interaction release. *Nature Communications*, **6**: 6376.
- Triponez, Y., Arrigo, N., Espíndola, A. & Álvarez, N., 2015. Decoupled post-glacial history in mutualistic plant–insect interactions: insights from the yellow loosestrife (*Lysimachia vulgaris*) and its associated oil-collecting bees (*Macropis europaea* and *M. fulvipes*). *Journal of Biogeography*, **42**: 630–640.
- Trojelsgaard, K. & Olesen, J.M., 2016. Ecological networks in motion: micro- and macroscopic variability across scales. *Functional Ecology*, **30**: 1926-1935.

- Trpis, M., 1973. Ecological studies on the breeding of *Aedes aegypti* and other mosquitoes in shells of the giant African snail *Achatina fulica*. *Bulletin of the World Health Organization*, **48**: 447-453.
- Trunz, V., Packer, L., Vieu, J., Arrigo, N. & Praz, C.J., 2016. Comprehensive phylogeny, biogeography and new classification of the diverse bee tribe Megachilini: Can we use DNA barcodes in phylogenies of large genera? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **103**: 245-259.
- Tucker, E. & Rehan, S.M., 2016. Wild bee pollination networks in northern New England. *Journal of Insect Conservation*, **20**: 325-337.
- Tur, C., Castro-Urgal, R. & Traveset, A., 2013. Linking plant specialization to dependence in interactions for seed set in pollination networks. *PLoS ONE*, **8**: e78294.
- Turell, M., 1976. Observations on the mating behavior of *Anthidiellum notatum* and *Anthidiellum perplexum*. *The Florida Entomologist*, **59**: 55-61.
- Uit de Weerd, D.R., Robinson, D.G. & Rosenberg, G., 2016. Evolutionary and biogeographical history of the land snail family Urocoptidae (Gastropoda: Pulmonata) across the Caribbean region. *Journal of Biogeography*, **43**: 763-777.
- Valido, A. & Olesen, J.M., 2019. Frugivory and seed dispersal by lizards: a global review. *Frontiers in Ecology and Evolution*, **7**: 49.
- Vargas, P., 2014. Angiosperms: Plants with flowers that produce fruits. En: Vargas, P. & Zardoya, R. (Eds.), *The tree of life: evolution and classification of living organisms*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. Pp. 132-142.
- Vargas, P., Liberal, I., Ornos, C. & Gómez, J.M., 2017. Flower specialization: the occluded corolla of snapdragons (*Antirrhinum*) exhibits two pollinator niches of large long-tongued bees. *Plant Biology*, **19**: 787-797.
- Vargas, P., Ornos, C., Blanco-Pastor, J.L., Romero, D., Fernández-Mazuecos, M. & Rodríguez-Gironés, M.A., 2013. En búsqueda de áreas de diversidad genética en Sierra Nevada: Análisis de plantas y abejas. En: Ramírez, L. & Asensio, B. (Eds.), *Proyectos de Investigación en Parques Nacionales: 2009-2012*. Organismo Autónomo de Parques Nacionales, MAGRAMA, Madrid, España. Pp. 123-142.
- Vargas, P., Ornos, C., Ortiz-Sánchez, F.J. & Arroyo, J., 2010. Is the occluded corolla of *Antirrhinum* bee-specialized? *Journal of Natural History*, **44**: 1427-1443.
- Vargas, P., Rumeu, B., Heleno, R.H., Traveset, A. & Nogales, M., 2015. Historical isolation of the Galápagos carpenter bee (*Xylocopa darwini*) despite strong flight capability and ecological amplitude. *PLoS ONE*, **10**: e0120597.
- Villalobos, E.M. & Shelly, T.E., 1991. Correlates of male mating success in two species of *Anthidium* bees (Hymenoptera: Megachilidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **29**: 47-53.
- Wainwright, C.M., 1978. Hymenopteran territoriality and its influences on the pollination ecology of *Lupinus arizonicus*. *The Southwestern Naturalist*, **23**: 605-615.
- Ward, P.S. & Brady, S.G., 2003. Phylogeny and biogeography of the ant subfamily Myrmeciinae (Hymenoptera: Formicidae). *Invertebrate Systematics*, **17**: 361-386.
- Wärebörn, I., 1970. Environmental Factors Influencing the Distribution of Land Molluscs of an Oligotrophic Area in Southern Sweden. *Oikos*, **21**: 285-291.
- Warncke, K., 1980. Die Bienengattung *Anthidium* Fabricius, 1804 in der Westpaläarktis und im turkestanischen Becken. *Entomofauna*, **1**: 119-209.
- Warncke, K., 1981. Die Bienen des Klagenfurter Beckens (Hymenoptera, Apidae). *Carinthia II*, **171**: 275-348.

- Warncke, K., 1982. Beitrag zur Bienenfauna des Iran. 15. Die Gattung *Anthidium* F. – *Bollettino del Museo Civico di Storia Naturale di Venezia*, **32**: 171-196.
- Warren, D.L., Glor, R.E. & Turelli, M., 2008. Environmental niche equivalency versus conservatism: quantitative approaches to niche evolution. *Evolution*, **62**: 2868-2883.
- Waser, N.M. & Ollerton, J., 2006. *Plant–pollinator interactions: from specialization to generalization*. University of Chicago Press, Chicago. 445 pp.
- Watson, D.M., 2009. Determinants of parasitic plant distribution: the role of host quality. *Botany*, **87**: 16-21.
- Weir, B.S. & Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, **38**: 1358–1370.
- Werner, F.J.M., 1935. Insekten und Arachnoideen von den Ägäischen Inseln. *Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse*. **144**: 281-297.
- Whittaker, R.J. & Fernández-Palacios, J.M., 2006. *Island Biogeography; ecology, evolution, and conservation*. Oxford University Press, Oxford. 416 pp.
- Widmer, A. & Schmid-Hempel, P., 1999. The population genetic structure of a large temperate pollinator species, *Bombus pascuorum* (Scopoli) (Hymenoptera: Apidae), *Molecular Ecology*, **8**: 387–398.
- Wirtz, P., Kopka, S. & Schmoll, G., 1992. Phenology of two territorial solitary bees, *Anthidium manicatum* and *A. florentinum* (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of Zoology*, **228**: 641-651.
- Wirtz, P., Szabados, M., Pethig, H. & Plant, J., 1988. An extreme case of interspecific territoriality: male *Anthidium manicatum* (Hymenoptera, Megachilidae) wound and kill intruders. *Ethology*, **78**: 159-167.
- Wisz, M.S., Hijmans, R.J., Li, J., Peterson, A.T., Graham, C.H., Guisan, A. & NCEAS Predicting Species Distribution Working Group, 2008. Effects of sample size on the performance of species distribution models. *Diversity and Distributions*, **14**: 763-773.
- Wisz, M.S., Pottier, J., Kissling, W.D., Pellissier, L., Lenoir, J., Damgaard, C.F., Dormann, C.F., Forchhammer, M.C., Grytnes, J.A., Guisan, A., Heikkinen, R.K., Høye, T.T., Kühn, I., Luoto, M., Maiorano, L., Nilsson, M.C., Normand, S., Öckinger, E., Schmidt, N.M., Termansen, M., Timmermann, A., Wardle, D.A., Aastrup, P. & Svenning, J.C., 2013. The role of biotic interactions in shaping distributions and realised assemblages of species: implications for species distribution modelling. *Biological Reviews*, **88**: 15–30.
- Woodcock, B.A., Bullock, J.M., Shore, R.F., Heard, M.S., Pereira, M.G., Redhead, J., Ridding, L., Dean, H., Sleep, D., Henrys, P., Peyton, J., Hulmes, S., Hulmes, L., Sárospataki, M., Saure, C., Edwards, M., Genersch, E., Knäbe, S. & Pywell, R.F., 2017. Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees. *Science*, **356**: 1393-1395.
- Woodard, S.H., Fischman, B.J., Venkat, A., Hudson, M.E., Varala, K., Cameron, S.A., Clark, A.G. & Robinson, G.E., 2011. Genes involved in convergent evolution of eusociality in bees. *PNAS*, **108**: 7472-7477.
- Xamheu, V., 1896. Moeurs et métamorphoses des *Anthidium oblongatum* et *7-dentatum*, Hyménoptères du groupe des Apides. *Bulletin de la Société entomologique de France*, **1**: 328-331.
- Zanden, G., 1996. Neue verbreitungsangaben zu einigen wenig bekannten paläarktischen bienen-arten (Insecta, Hymenoptera, Apoidea). *Linzer Biologische Beiträge*, **28**: 387-390.

- Zayed, A. & Packer, L., 2007. The population genetics of a solitary oligolectic sweat bee, *Lasioglossum* (*Sphecodogastra*) *oenotherae* (Hymenoptera: Halictidae). *Heredity*, **99**: 397-405.
- Zettel, H., Hölzler, G. & Mazzucco, K., 2002 Anmerkungen zu rezenten Vorkommen und Arealerweiterungen ausgewählter Wildbienen-Arten (Hymenoptera: Apidae) in Wien, Niederösterreich und dem Burgenland (Österreich). *Beiträge zur Entomofaunistik*, **3**: 33-58.

